

Laboratoire de Zoologie et d'Anatomie comparée, Université de Lausanne.

CHROMOSOMES DE MURIDAE

(MICROTINAE ET CRICETINAE).

Par

ROBERT MATHEY.

Avec 55 figures dans le texte.

(Eingegangen am 8. März 1952.)

Introduction.

L'étude extensive des chromosomes chez les Rongeurs, en particulier au sein de la famille des *Muridae*, présente un intérêt très vif en raison du nombre élevé d'espèces et de la grande variété des formules chromosomiques. Il est permis d'espérer qu'en accumulant des données, toujours plus nombreuses et toujours plus précises, il sera plus tard possible d'utiliser ce matériel pour parvenir à une compréhension meilleure de l'évolution chromosomiale. Notre propos principal, mais qu'il n'est pas encore temps de développer, est donc d'ordre phylétique.

Un second problème a retenu notre attention: depuis 1934, une conception, due initialement à DARLINGTON et à KOLLER, puis reprise par ce dernier dans une série de travaux, prétend donner une solution générale aux nombreux problèmes que posent les hétérochromosomes des Mammifères: l'*X* et l'*Y* auraient un segment pair au niveau duquel pourraient apparaître des chiasmas, ceux-ci représentant le mécanisme normal d'association des chromosomes sexuels; selon les positions relatives des centromères et des segments pairs, selon le nombre de chiasmas formés, le couple *X—Y* se disjoindra réductionnellement ou équationnellement à la métaphase I; pour une espèce donnée, il y a trois possibilités, au maximum: 100% de pré-réductions, 100% de post-réductions, ou encore un certain pourcentage de chacune des deux modalités. J'ai souligné, tant dans mon livre (1949) que dans un travail récent (1950), le mérite de cette hypothèse qui replace un cas particulier dans un cadre général; mais j'ai insisté aussi sur sa fragilité, du point de vue purement cytologique. S'il est incontestable que la pré-réduction est le cas général, et non moins incontestable que la post-réduction est de règle chez les *Apodemus*, la coexistence des deux modes chez une même espèce a été formellement niée par MAKINO (1941, 1943), et, si j'ai cru la rencontrer parfois, je n'ai jamais eu la preuve décisive de sa réalité. J'ai même développé (1949) une autre hypothèse où pré-réduction et post-réduction s'expliquent par un décalage chronologique dans le cycle de division des

centromères. La question demeure donc ouverte, et, sans prétendre apporter une réponse définitive, je me suis attaché à réunir des faits qui y soient relatifs, en particulier à préciser si l'*X* et l'*Y* s'unissent normalement par des chiasmas.

Matériel et méthodes.

Ayant découvert le gigantisme des hétérochromosomes chez *Microtus agrestis*, j'étais très désireux de comparer notre espèce européenne avec le *M. pennsylvanicus* américain que les systématiciens considèrent comme excessivement voisine. J'ai pu obtenir de nombreux exemplaires de ce Campagnol grâce à l'obligeance du Dr. E. MAYR (American Museum), de mon ancien élève, J. HEARTSHORNE et de M. V. SCHWENTKER de Tumblebrook-Farm (N. Y.). C'est également à ce dernier collaborateur que je suis redevable des *Cricetulus griseus* et des *Sigmodon hispidus* étudiés dans ce travail. Je dois au Ministère de l'Agriculture palestinien, particulièrement au Dr. Y. NAFTALI, ainsi qu'au professeur J. BODENHEIMER (Université de Jérusalem) une série de *Microtus guentheri*; mon collègue, E. WOLFF (Université de Strasbourg) m'a envoyé des *Cricetus cricetus* d'Alsace. Quant aux *Mesocricetus auratus*, il est actuellement facile de se les procurer dans le commerce.

Méthodes. J'ai souvent exposé ma technique dont voici un bref résumé: l'animal est anesthésié à l'éther, la cavité abdominale est ouverte et quelques petits fragments testiculaires sont plongés dans le liquide de Flemming (sans acide acétique) et de Champy. D'autres fragments, immergés dans le carmin acétique, serviront à la confection de frottis, postfixés à l'alcool 70°, hydrolysés 12 minutes par HCl/N, à 56° et recolorés à la fuchsine sulfureuse. Ces frottis sont souvent fort utiles bien que la fixation soit généralement bien inférieure à celle que l'on obtient par les liquides osmiés. Les coupes, épaisses de 10 μ , ont été colorées par l'hématoxyline ferrique et le Feulgen. Le grossissement de toutes les figures est de 4.000 diamètres.

Observations personnelles et discussion de chaque cas.

1. Microtinae.

Microtus pennsylvanicus ORD.

Les figures 1—3 (la fig. 1 ayant été exécutée d'après un frottis) montrent les caractéristiques de l'espèce; il y a 46 chromosomes, soit une grande paire d'attachement submétacentrique (rapport des bras $\frac{1}{3}$, environ) et une paire assez petite de véritables métacentriques ($\frac{1}{1}$). Les autres chromosomes, à l'exception de l'*X*, rarement identifiable dans les cinèses diploïdes (fig. 3), forment une série d'éléments d'attachement apparemment terminal et de longueur assez régulièrement décroissante lorsqu'on passe d'un couple au suivant.

La métaphase auxocytaire (fig. 4 et 5) montre 23 bivalents, le complexe *X—Y* ayant, en plaque équatoriale, la forme d'un *L* couché. En profil, l'*X* (fig. 6 et 7) révèle un attachement nettement submédian et

revêt en conséquence la forme d'un petit V à bras inégaux. L'Y se trouve dans le prolongement du bras court sous la forme d'un court

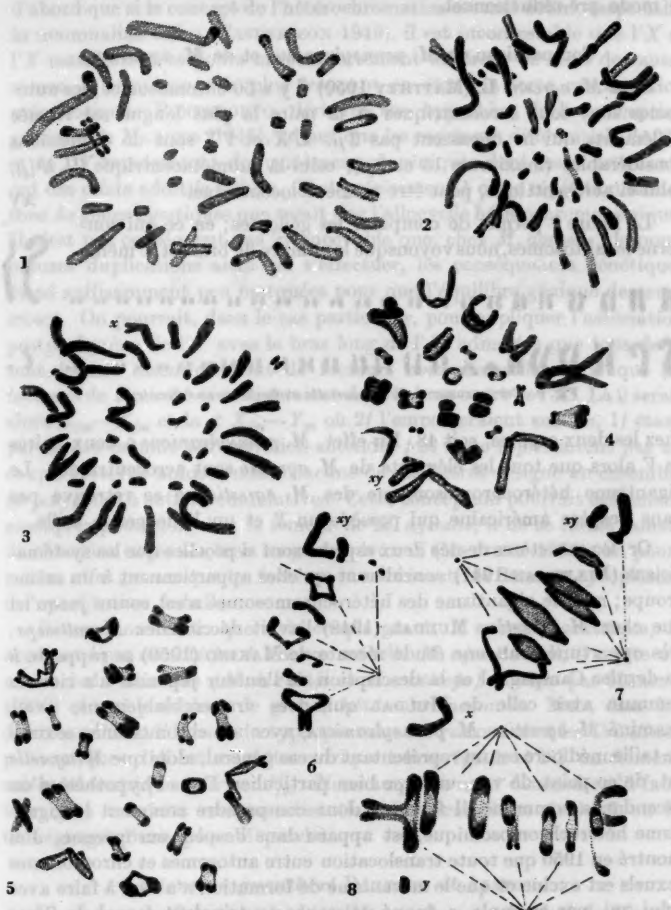


Fig. 1—8. *Microtus pennsylvanicus*. — Fig. 1: Division spermatogonale (frottis; Carmin acétique, Feulgen). Fig. 2—3: Divisions spermatogoniales. Fig. 4—8: Métaphases I, en vue polaire et de profil. — Fixation: Flemming ou Champy. Coloration: Feulgen (3, 4, 5, 8) ou Heidenhain (2, 6, 7). $\times 4050$.

bâtonnet montrant une constriction sub-apicale. Entre l'X et l'Y, j'ai constamment observé une légère solution de continuité, soit qu'il n'y ait

réellement pas de contact, soit que la liaison se rompe très précocement. L'anaphase (fig. 8) voit se réaliser la séparation de l'X et de l'Y selon le mode pré-réductionnel.

Comparaison de *M. pennsylvanicus* et de *M. agrestis*.

Chez *M. agrestis* L. (MATTHEY 1950) il y a 50 chromosomes; les autosomes sont tous acrocentriques et la paire la plus longue est formée d'éléments qui ne dépassent pas 3μ . L'X et l'Y sont de dimensions considérables (maximum 15 et 8μ), celui-là submétacentrique ($1/3$ à $1/4$), celui-ci acrocentrique, peut être même télacentrique.

xy

La figure 9 permet de comparer les génomes; en ce qui concerne les autosomes, nous voyons que le nombre de bras est le même

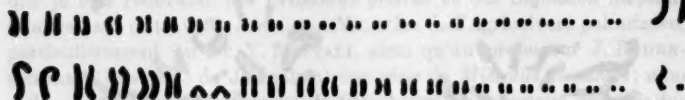


Fig. 9. Caryogrammes de *M. agrestis* et de *M. pennsylvanicus*.

chez les deux espèces, soit 48. En effet, *M. pennsylvanicus* a deux paires en V alors que tous les éléments de *M. agrestis* sont acrocentriques. Le gigantisme hétérochromosomique des *M. agrestis* ne se retrouve pas dans l'espèce américaine qui possède un X et un Y de petite taille.

Or, les caractères de nos deux espèces sont si proches que les systématiciens (ELLERMAN 1941) considèrent qu'elles appartiennent à un même groupe; mais le gigantisme des hétérochromosomes n'est connu jusqu'ici que chez *M. agrestis*. MULDAL (1948) l'avait décrit chez *M. ratticeps*; très opportunément, une étude récente de MAKINO (1950) se rapporte à ce dernier Campagnol et la description de l'auteur japonais n'a rien de commun avec celle de MULDAL qui, très vraisemblablement, avait examiné *M. agrestis*. *M. pennsylvanicus*, avec ses chromosomes sexuels de taille médiocre est un représentant du cas général, alors que *M. agrestis* est, de ce point de vue, un type bien particulier. Dans l'hypothèse d'un ascendance commune, il faudrait donc comprendre comment le gigantisme hétérochromosomique, est apparu dans l'espèce européenne. J'ai montré en 1950 que toute translocation entre autosomes et chromosomes sexuels est exclue et que le mécanisme de formation n'a rien à faire avec celui qui, par exemple, a donné naissance au trivalent sexuel de *Sorex araneus* (BOVEY 1949). En effet, l'Y et l'X de *M. agrestis* subissent une contraction zygotypytène totale et se révèlent ainsi comme entièrement hétérochromatiques. Nous sommes donc devant un problème évolutif difficile à aborder. Cependant, nous pouvons peut-être tenter une interprétation des conditions si particulières des hétérochromosomes chez

M. agrestis en recourant aux idées développées par PONTECORVO (1943) et relatives à l'allocyclie des chromosomes sexuels. Je rappellerai tout d'abord que si le concept de l'hétérochromatine est mal défini, «especially in mammalian cells» (CASPERSSON 1949), il est incontestable que l'X et l'Y manifestent toujours un comportement différent de celui des autosomes, le témoignage le plus frappant en étant la forte condensation préméiotique. PONTECORVO, dérivant son hypothèse de la conception générale de MATHER (1943), admet que les segments différentiels de l'X et de l'Y représentent des systèmes polygéniques dont les constituants ont des effets additifs faibles. C'est précisément à cette répétition monotone de gènes identiques que serait due l'allocyclie hétérochromosomique. Il n'est par conséquent pas inconcevable que, chez *M. agrestis*, de nombreuses duplications aient pu s'effectuer, les conséquences génétiques étant suffisamment peu marquées pour que l'équilibre génique demeure intact. On pourrait, dans le cas particulier, pour expliquer l'association postpachytène de l'Y avec le bras long de l'X, admettre que tous deux sont formés essentiellement de facteurs masculinisants, alors que les facteurs de féminité se trouveraient dans le bras court de l'X. La ♀ serait alors $X_{fm}-X_{fm}$ et la ♂ $X_{fm}-Y_m$ où 2f l'emporteraient sur 2m, 1f étant par contre dominé par 2m; bien entendu, f et m ne représentent pas un couple factoriel unique, mais chacune de ces lettres désigne un ensemble de polygènes à actions cumulatives. Cette conception pourrait également expliquer pourquoi, chez la femelle de *M. agrestis*, il ne se forme jamais de chiasmas entre les bras longs des deux X (MATTHEY 1950); on pourrait en effet penser que les facteurs m sont inactivés dans un cytoplasme de constitution femelle.

Remarquons enfin que si le couple géant, X sub-métacentrique, Y acrocentrique caractérise à l'heure actuelle *M. agrestis* seul, il existe au moins deux *Microtus* (*M. kikuchii* et *M. ratticeps*) étudiés par MAKINO (1950) et qui possèdent de grands hétérochromosomes. Mais, dans les deux cas, l'X et l'Y sont du type que nous trouverons chez les *Cricetinae* paléarctiques: l'X est un métacentrique à bras égaux et l'Y un élément sub-métacentrique (environ $2/3$). Nous aurons à nous demander s'il faut voir dans ces faits une manifestation de parallélisme évolutif ou le témoignage d'une parenté proche.

***Microtus guentheri* DANFORD et ALSTON.**

Le groupe de Campagnols dont *M. guentheri* est le chef de file n'a été jusqu'ici l'objet d'aucune investigation cytologique. Mes observations sont peu nombreuses, mais les faits essentiels sont bien clairs. Les divisions diploïdes (fig. 10) montrent 54 chromosomes de caractère acrocentrique; l'X et l'Y, ce dernier très petit, ne sont pas identifiables dans les mitoses, bien que l'on puisse suspecter la nature métacentrique d'un ou

deux éléments. Par contre, la métacentrique de l'X apparaît clairement à la métaphase I (fig. 11), ainsi que la liaison «à distance» avec l'Y, ce dernier se trouvant dans le prolongement du bras le plus court de l'X. Ces constatations impliquent la pré-réduction, dont, étant donné le petit nombre de figures accessibles à l'observation, je ne saurais assurer la généralité.



Fig. 10—11. *Microtus guentheri*. — Fig. 10: Division spermatogoniale. Fig. 11: Métaphase I. Fixation: Flemming ou Champy. Coloration: Feulgen (10) ou Heidenhain (11). $\times 4050$.

Les chromosomes des *Microtus*.

La situation actuelle, les données erronées de TATEISHI (1937) sur *M. kikuchii* et de MULDAL (1948) sur *M. ratticeps* ayant été rectifiées par MAKINO (1950), est la suivante:

Espèce	Auteur	2N	N.F.	Hétéros
<i>M. townsendii</i>	CROSS (1931)	50	50	?
<i>M. arvalis</i>	RENAUD (1938)	46	58	X—Y
<i>M. orcadensis</i>	MATTHEY (1951) ¹	44	56	?
<i>M. nivalis</i>	MATTHEY (1947)	56	56	X—Y
<i>M. montebelli</i>	OGUMA (1937)	31	56	X—O
<i>M. kikuchii</i>	MAKINO (1950)	28	54	X—Y
<i>M. ratticeps</i>	MAKINO (1950)	30	58	X—Y
<i>M. agrestis</i>	MATTHEY (1950)	50	52	X—Y
<i>M. pennsylvanicus</i>	MATTHEY (1951)	46	52	X—Y
<i>M. guentheri</i>	MATTHEY (1951)	54	56	X—Y

Remarquons tout d'abord que, pour quatre espèces (*M. townsendii*, *M. arvalis*, *M. nivalis*, *M. orcadensis*), les données relatives aux hétérochromosomes manquent ou sont insuffisantes; s'il semble donc probable que ces hétérochromosomes sont de taille médiocre, la chose n'est pas certaine. Au contraire, les chromosomes sexuels sont grands chez *M. montebelli*, *M. ratticeps*, *M. kikuchii*. Dans les trois cas, l'X est un métacentrique symétrique et l'Y (dans les deux dernières espèces) un métacentrique à bras inégaux ($2/3$, environ). Chez *M. agrestis*, les chromosomes sexuels sont les plus grands de tous, l'X étant sub-métacentrique ($1/2$) et l'Y télacentrique.

¹ J'ai pu revoir cette espèce qui a 46 chromosomes et un X—Y de type *arvalis*.

Le nombre $2N$ varie de 28 à 56, mais le « nombre fondamental » ($N.F.$, MATTHEY 1949) difficile à évaluer avec précision, est compris entre 50 et 58, ce qui nous montre que les fusions centriques ont dû jouer un rôle important dans l'évolution du groupe. La cytologie nous permet donc de répartir provisoirement les *Microtus* en 5 groupes :

- I. *M. arvalis*, *M. orcadensis*.
- II. *M. ratticeps*, *M. kikuchii*, *M. montebelli*.
- III. *M. guentheri*, *M. nivalis*, *M. townsendii*.
- IV. *M. pennsylvanicus*.
- V. *M. agrestis*.

I. *M. arvalis* et *M. orcadensis* ont des génomes extraordinairement semblables (MATTHEY 1951); leur appartenance à un même groupe, admise par les systématiciens, devra encore être cytologiquement confirmée par l'étude des chromosomes sexuels.

II. Ces trois espèces ont un nombre diploïde peu élevé et un X métacentrique grand. L' Y , absent chez *M. montebelli*, est un grand élément sub-métacentrique chez les deux autres.

III. Ici, seul le caractère acrocentrique de tous les autosomes et le nombre diploïde élevé sont pris en considération. L'étude des hétérochromosomes de *M. nivalis* et de *M. townsendii* doit être reprise.

IV. *M. pennsylvanicus* est isolé; bien que systématiquement proche de *M. agrestis*, il en diffère: a) par ses deux paires d'autosomes métacentriques; b) par ses petits hétérochromosomes.

V. *M. agrestis* n'a que des autosomes acrocentriques. Ses chromosomes sexuels géants diffèrent beaucoup de ceux du groupe II: l' X est sub-métacentrique et l' Y télacentrique.

2. Cricetinae.

Les conditions chromosomiques, spécialement en ce qui concerne les hétérochromosomes, sont très semblables dans les trois espèces paléarctiques que j'ai étudiées (*Cricetus cricetus*, *Cricetulus griseus*, *Mesocricetus auratus*). Les formes américaines sont par contre très différentes. J'ai examiné 4 spécimens de *Neotoma floridana*, mais ce matériel insuffisant devra être repris. Par contre, chez *Sigmodon hispidus*, il m'est possible de préciser les points principaux.

Sigmodon hispidus SAY et ORD.

CROSS (1931) a analysé les cinèses diploïdes de ce Rongeur et compté 54 chromosomes acrocentriques, alors que MULDAL (1947) n'en trouve que 40. Les observations de CROSS sont exactes, car, si je n'ai pas dessiné de mitoses spermatogoniales, j'en ai étudié quelques unes qui, effectivement, ne montrent que des éléments acrocentriques; d'autre part, les

métaphases I (fig. 12—15), comme les secondes cinèses (fig. 20) renferment bien 27 tétrades ou dyades.

Le complexe X—Y présente une physionomie assez particulière: en profil, (fig. 16—19) il se montre formé de deux filaments de longueurs très inégales; ces deux filaments sont unis proximement au niveau d'un point (fig. 16) ou d'un renflement (fig. 17—19) bien marqué et très

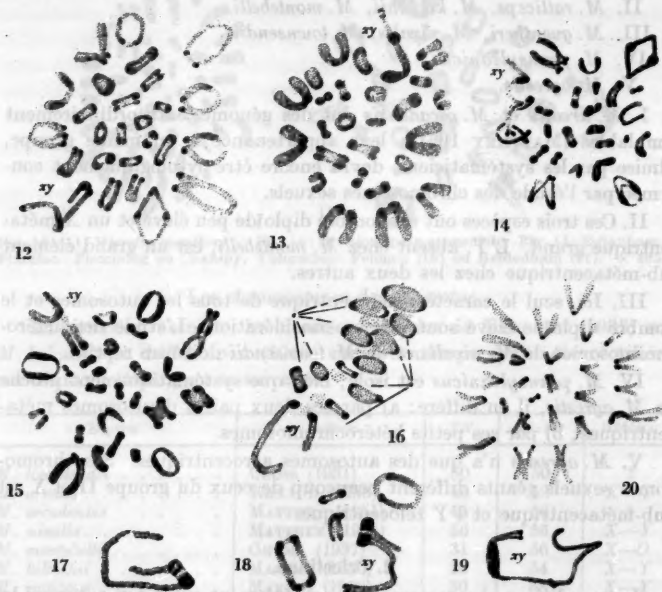


Fig. 12—20. *Sigmodon hispidus*. — Fig. 12—15: Métaphases I, en vue polaire. Fig. 16: Métaphase I de profil. Fig. 17—19: Différents aspects du complexe XY à la métaphase I. Fig. 20: Métaphase II. — Fixation: Flemming ou Champy. Coloration: Foulgen (12, 13, 18, 19, 20) ou Heidenhain (14, 15, 16, 17). $\times 4050$.

colorable. Il m'apparaît comme probable que ce bivalent est constitué de deux hétérochromosomes acrocentriques, ou même télolocentriques; dans l'original de la figure 16, il est impossible d'affirmer l'existence d'une liaison matérielle entre les globules proximaux, alors qu'une telle liaison semble exister dans les figures 17—19. En tout cas, le bras court, s'il existe, est excessivement réduit et la liaison de l'X avec l'Y ne semble pas de nature chiasmatisque; peut être, l'attraction est-elle purement centromérique.

Notons que si le renflement (centromère?) très basophile, se colore avec une énergie particulière, soit par l'hématoxyline ferrique, soit par

le Feulgen, le long filament de l'*X* et celui, beaucoup plus court de l'*Y*, ne sont pas négativement hétérochromatiques. Au contraire, la fuchsine sulfureuse les colore un peu plus intensément que les autosomes; les préparations à l'hématoxyline ferrique laissent également ces filaments bien évidents alors même que l'extraction du colorant a été énergique.

Dans nos figures, l'*X* mesure de 4 à 7 μ . J'attribue ces variations avant tout à la fixation, car je remarque que les figures les mieux fixées sont aussi celles où l'*X* atteint la taille la plus grande. Je n'invoque donc ici, ni le degré de spiralisation, encore que celui-ci puisse jouer un rôle, ni la charge en acides nucléiques pour expliquer cette variation. Ce point de vue sera développé à propos de *M. auratus*. Beaucoup plus court que l'*X*, l'*Y* ne dépasse pas 2 μ .

En résumé, *Sigmodon hispidus* montre un *X* et un *Y* de caractère très acrocentrique, peut-être télacentrique. La longueur des chromosomes sexuels implique l'absence d'une spirale majeure. Par contre, ces bras ne sont pas hétérochromatiques, ce qui donne à penser que l'hypothèse d'une relation causale entre charge nucléaire et degré de spiralisation (DARLINGTON) n'est pas applicable dans ce cas.

Cricetus cricetus L.

Abordons l'étude des Hamsters de l'Ancien-Monde. Chez *Cricetus cricetus*, le nombre diploïde est égal à 22 (fig. 21 et 22). Les divisions spermatogoniales de qualité n'abondent pas dans mon matériel, aussi la sériation que j'ai pu établir (fig. 55) est un peu conjecturale. Il est cependant certain que les chromosomes sexuels sont les plus grands de tous, l'*X* étant métacentrique et l'*Y* sub-métacentrique ($1/3$ environ). Les autosomes doivent être classés de la manière suivante: il y a 4 paires de grands *V*, puis deux paires dotées d'un bras court bien net, mais peu développé ($1/6$ — $1/8$). Viennent ensuite 3 couples de petits *V*; la paire la plus petite est probablement métacentrique elle aussi, sans que ceci puisse être formellement affirmé. Dans la fig. 21, l'*X* et l'*Y* mesurent respectivement, environ 6,2 et 6 μ .

À la métaphase I (fig. 23 et 24), on compte aisément 11 bivalents, dont un complexe *X*—*Y* immédiatement reconnaissable à ses dimensions et à son allure. Si nous comparons entre elles les figures 23 et 24, nous sommes frappés par la supériorité de fixation de cette dernière. Et nous constatons aussi que l'*X* et l'*Y* sont beaucoup plus allongés dans la figure la mieux fixée. Les figures 25—27 montrent le bivalent sexuel de

	<i>X</i>	Bras long	Bras court	<i>Y</i>	Bras long	Bras court
Figures 25	6,2	5	1,2	4,9	3,7	1,2
Figures 26	7,4	5,6	1,8	4,9	3,1	1,8
Figures 27	9,8	8,1	1,7	5,4	3,7	1,7

profil; je ne l'ai jamais vu qu'en pré-réduction, mais il est vrai que je suis si difficile dans le choix des cinèses à analyser que je ne dispose

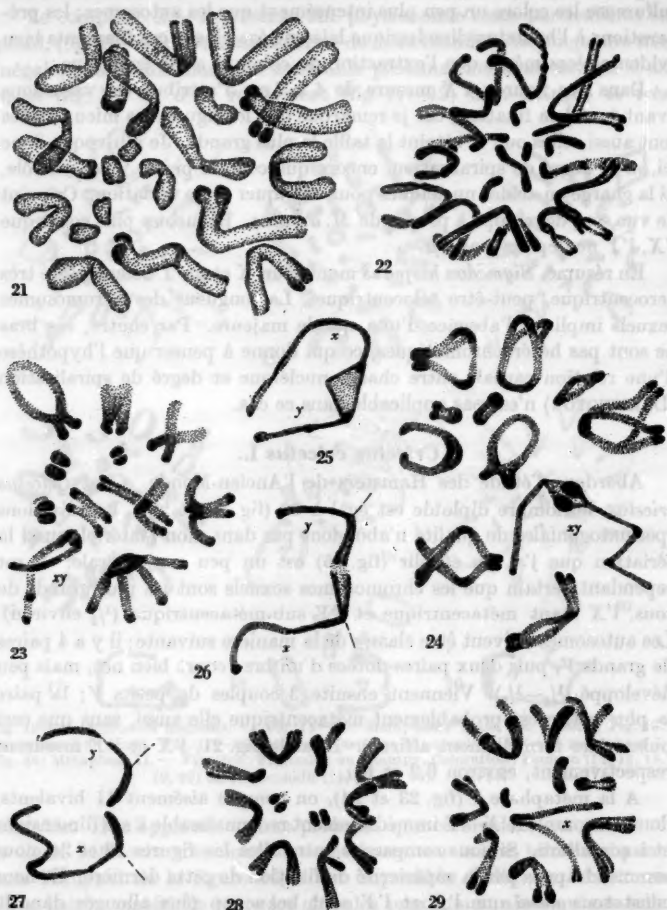


Fig. 21—29. *Cricetus cricetus*. — Fig. 21: Division spermatogonale (frottis; Carmin acétique. Feulgen). Fig. 22: Division spermatogonale. Fig. 23—24: Métaphases I, en vue polaire. Fig. 25—27: Différents aspects du complexe XY à la métaphase I. Fig. 28—29: Métaphase II. — Fixation: Flemming ou Champy. Coloration: Feulgen (23, 24, 25, 26, 27, 28, 29) ou Heidenhain (22). $\times 4050$.

jamais d'un grand nombre d'observations. Je ne veux donc pas affirmer que la post-réduction n'existe pas, et ceci d'autant moins que l'union de

l'X et de l'Y dans les figures 24—26 semble de nature nettement chiasmatische. Les figures 25—27 permettent de donner les mensurations des chromosomes sexuels.

Or, le bras long¹ de l'X diploïde mesure environ $3,7 \mu$; il semble donc qu'à la métaphase I la spiralisation mineure soit plus détendue que dans les divisions mitotiques. Dans la figure 23, le bras long de l'Y, contenu dans un seul plan, mesure $3,7 \mu$, soit la même taille qu'à la mitose. Le rapprochement des tours de spire est donc approximativement le même dans les deux types de division. Le bras court des hétérochromosomes est par contre relativement trop court; il est probable que ce fait s'explique par une nécessité mécanique, soit une certaine longueur requise pour l'établissement d'un chiasma. Les figures 24—26 parlent en faveur de cette hypothèse que l'analyse de *Cricetulus griseus* viendra corroborer. Par contre, on pourrait s'attendre à ce que la répulsion centromérique, et, plus tard, la traction fusorielle tendent à allonger le bras court; la figure 26 ne montre rien de pareil, mais semble indiquer que l'union des hétérochromosomes se rompt avant que ces facteurs d'étirement ne fassent sentir leur effet, observation peu favorable à l'idée d'une liaison par chiasma.

Les figures 28 et 29 représentent des secondes cinèses dotées de l'X et de l'Y; la grande dyade mince de la figure 29 a exactement le type d'attachement et la longueur de l'X, tel que nous l'avons décrit dans les mitoses. Comparé à *Sigmodon hispidus*, *Cricetus cricetus* en diffère: a) par le nombre $2N = 22$ (au lieu de 54), la différence étant largement imputable au fait que le génome de *Cricetus* ne compte que des métacentriques, alors que celui de *Sigmodon* est constitué par des acrocentriques; b) par le développement des bras courts de l'X et de l'Y, ces deux bras s'unissant par un véritable chiasma. Une seconde espèce paléarctique va nous montrer les mêmes caractères.

Cricetulus griseus M.B.

En 1943, PONTECORVO a donné une description des chromosomes de cette espèce. Il compte 14 chromosomes, ce qui est erroné, mais identifie correctement l'X et l'Y comme les deux métacentriques les plus grands, l'un à bras égaux, l'X, l'autre à bras inégaux, l'Y. Le matériel de PONTECORVO ayant été médiocrement fixé, les chromosomes sont très contractés; aussi les dimensions que donne PONTECORVO pour les chromosomes sexuels (5 et $6,5 \mu$) sont-elles sensiblement inférieures à celles que j'ai observées. PONTECORVO assure que, sur 64 métaphases auxocytaires «clear», il a relevé 39 cas de pré-réduction et 25 cas de post-réduction

¹ Il n'est pas certain que la comparaison de l'X mitotique et de l'X méiotique soit valable. Voir à ce sujet le chapitre intitulé: Comparaison de *Cricetus cricetus*, *Cricetulus griseus* et *Mesocricetus auratus*.

des hétérochromosomes. Ces chiffres sont extraordinaires: dans mon matériel, provenant de quatre mâles, c'est tout juste si j'ai pu trouver une demi-douzaine de métaphases I bien fixées, et aucune ne m'a paru assez claire pour que je prenne la peine de la dessiner; d'autre part, je n'ai pu disposer de plus d'une vingtaine de profils montrant nettement le comportement des chromosomes sexuels. L'énorme erreur commise par PONTECORVO dans l'évaluation du nombre diploïde (14 au lieu de 22!) n'a donc pas été corrigée par l'analyse des cinèses réductionnelles; si celles-ci étaient vraiment «clear», il faut comprendre que PONTECORVO a compté 7 bivalents dans les 64 cas? Dès lors, il est permis d'envisager avec scepticisme les observations de PONTECORVO, ce que j'ai fait dès 1949, au seul vu des dessins. Les observations qui suivant montrent que ce scepticisme était justifié. Par contre, la partie théorique du travail de PONTECORVO est riche de suggestions intéressantes relative à l'allocyclye hétérochromosomique, comme je l'ai souligné en discutant le cas de *Microtus pennsylvanicus*. Au point de vue faits, je soulignerai encore que les bras allongés de l'Y, et surtout de l'X, à la métaphase I, ne sont pas véritablement hétérochromatiques négativement: il s'agit d'une hétérochromatie «optique» (GUÉNIN 1948), due à la minceur de ces bras despiralisés, minceur qui permet une extraction rapide du colorant lorsqu'on utilise une méthode exigeant une différenciation (violet de Newton, hématoxyline ferrique). La coloration au Feulgen donne par contre à ces bras une teinte pourpre aussi intense que celle des segments fortement spiralisés.

Cricetulus griseus est doté de 22 chromosomes, comme *Cricetus cricetus*. Remarquons en passant que ce nombre est le plus petit que l'on connaisse chez un Euthérien (*Sorex araneus* a 23 éléments, BOVEY 1949). Les figures 30—33, ainsi que les sériations de la figure 55 montrent une morphologie chromosomique très voisine de celle trouvée chez *Cricetus*. Il semble bien certain que tous les chromosomes sont métacentriques, symétriques ou asymétriques, le bras court étant peu développé dans 2 ou 3 paires. L'X et l'Y sont les plus grands de tous les chromosomes, l'X ayant des bras égaux, l'Y inégaux (environ 1/1,5). Dans la figure 30 où ces éléments sont peu contractés, on obtient les mesures suivantes:

X	bras long:	4	bras court:	4	total:	8 μ
Y	„ „ „	4,5	„ „ „	3	„ „	7,5 μ

Je n'ai pas trouvé de métaphases I absolument satisfaisantes, mais j'ai pu observer le comportement de l'X—Y en profil avec précision. Toutes les figures montrent la pré-réduction de ce complexe (fig. 34—40), le degré de contraction des hétérochromosomes dans leur portion différentielle variant dans des limites assez larges, ce que j'attribue principalement à la fixation. Les figures 36—38, cette dernière surtout, montrent d'incontestables chiasmas, probablement entre les bras longs de l'X et de l'Y, et, par là même, la réalité du mécanisme d'association postulé



Fig. 30—42. *Cricetus griseus*. Fig. 30—31: Divisions spermatogoniales. Fig. 32: Division spermatogoniale (frottis: Carmin acétique, Feulgen). Fig. 33: Division spermatogoniale. Fig. 34—38: Différents aspects du complexe XY à la métaphase I. Fig. 39—40: Le complexe XY à l'anaphase I. Fig. 41—42: Métaphases II. Fixation: Flemming ou Champy. Coloration: Feulgen. $\times 4050$.

par la théorie de DARLINGTON et KOLLER. Ces figures confirment donc pleinement la supposition que nous avait suggérée l'analyse de *Cricetus*

cricetus, soit l'union chiasmatic de l'*X* et l'*Y*. Au contraire, chez *Sigmodon*, dont un bras est absent ou rudimentaire, le mécanisme d'association semble reposer plutôt sur une attraction centromérique que sur un chiasma.

L'existence reconnue d'une liaison chiasmatic implique-t-elle des *c—o* entre chromosomes sexuels? La réponse à cette question est très délicate à donner. Je ne puis évoquer ici la discussion relative aux tétrades sans chiasmas des Mantides et des Blattides, non plus que les travaux récents de MATSUURA tendant à réintroduire une hypothèse dérivée de la théorie des deux plans. Pour l'instant, la conclusion la plus raisonnable me paraît celle de S. HUGHES-SCHRADER (1950), lorsqu'elle écrit: «Assuredly the chiasma has lost all significance as an index of crossing-over if we dismiss as illusory its appearance where genetic evidence denies crossing-over, and on the other hand, interpret its absence as an invisible presence in material suspected, on howsoever cogent ground, of undergoing crossing-over!». Nous devons donc, provisoirement tout au moins, assurer que lorsque l'*X* et l'*Y* possèdent chacun un bras court bien développé, les hétérochromosomes s'associent par un chiasma au niveau de ces bras.

Si nous revenons au comportement de l'*X—Y*, nous voyons le chiasma se terminaliser à l'anaphase I (fig. 39) et les deux partenaires se séparent pré-réductionnellement (fig. 40). Les métaphases II (fig. 41 et 42) montrent 11 dyades, parmi lesquelles l'identification des chromosomes sexuels ne m'a pas été possible.

Mesocricetus auratus WATERHOUSE.

Cette espèce a été cytologiquement étudiée par KOLLER (1938, 1945) et par HUSTED, HOPKINS et MOORE (1945). Examinons rapidement les contributions de ces auteurs.

KOLLER (1938) n'a donné qu'une description très insuffisante des divisions diploïdes, «the 38 somatic chromosomes being crowded in a small equatorial plate». Il remarque cependant que les deux plus grands chromosomes forment une paire nettement hétéromorphe, soit un couple *X—Y*; d'après la fig. 1b de l'auteur anglais, les proportions des bras sont de $\frac{1}{3}$ pour l'*Y*, de $\frac{2}{3}$ pour l'*X*; dans le texte, il est dit que l'*Y* et l'*X* ont un attachement subterminal, les longueurs des bras étant dans le rapport $\frac{1}{4}$ (page 184) ou $\frac{1}{5}$ (page 194).

L'évolution préméiotique du complexe hétérochromosomique est difficile à suivre, une condensation pachytène précoce masquant le mode exact d'association. A la diacinèse, deux régions peuvent être distinguées, soit une portion fortement condensée et une portion diffuse peu colorable; cette dernière évolue peu à peu en un long filament, faiblement basophile, associé à l'une, ou aux deux extrémités de la région dense.

A la métaphase I, le bivalent sexuel peut être asymétrique ou symétrique, les pourcentages respectifs de ces deux types étant 81,6 et 18,4. L'association se fait par les bras longs de l'X et de l'Y, le bras court de celui-ci mesurant alors le cinquième du bras long. Par contre, le bras court de l'X, négativement hétérochromatique, a subi une despiralisation intense se traduisant par un amincissement considérable, d'où il résulte qu'à la métaphase I, le bras «court» est environ deux fois plus allongé que le bras «long»! Cette partie étirée, c'est le segment différentiel de l'X, distinctement clivé en deux chromatides. Le partage du complexe est équationnel pour le type symétrique, réductionnel dans le cas où le bivalent est asymétrique.

De ces observations, KOLLER tire les conclusions suivantes: le segment différentiel de l'X ne possède qu'une spiralisation mineure, alors que le segment pair, comme l'Y tout entier, assume une double spiralisation, ce que font aussi les autosomes. Le type asymétrique implique l'existence d'un chiasma dans le bras long des hétérochromosomes, le type symétrique celle de deux chiasmas, l'un dans le bras long, l'autre dans le bras court. Par conséquent, le segment pair de l'X s'étend sur une longueur de bras court égale à celle du même bras court, chez l'Y. Les proportions 81,6 et 18,4 signalées plus haut, nous donnent les dimensions relatives du segment pair, de part et d'autre du centromère.

En 1945, KOLLER reprend l'étude du Hamster doré et confirme, en passant, ses numérations de 1938 («In the golden Hamster with 38 chromosomes...»), sans parler du travail de HUSTED et de ses collaborateurs, qu'il cite pourtant dans sa bibliographie. L'enquête de KOLLER porte spécialement sur l'allocyclie du segment différentiel et la charge de celui-ci en acides nucléiques. Une étude comparative du comportement auxocytaire chez le Hamster normal, en état d'inanition ou vieilli, lui permet d'avancer diverses hypothèses, centrées autour de ce thème: la carence en acides nucléiques entraîne la non-association des chromosomes sexuels et parfois des autosomes; l'appariement post-pachytène se fondant sur la formation de chiasmas, et celle-ci dépendant de la fissuration des chromosomes et des gènes, on peut admettre que ce dernier processus exige une quantité liminale d'acides nucléiques. Je ne m'étendrai pas d'avantage sur ce second travail de KOLLER, passablement en dehors de notre propos. D'ailleurs les résultats obtenus n'ont plus guère d'intérêt, en raison du fait que les deux types d'acides nucléiques n'ont pas été distingués. Or, nous savons maintenant que l'acide désoxyribonucléique demeure en quantité constante dans les chromosomes, même lorsque leur possesseur est en état d'inanition. Je ne puis faire mieux que de citer ici quelques lignes de MIRSKI (1951): «In the past DNA has been considered to be a highly variable cell component and there has been, accordingly, much speculation concerning the so-called

nucleic acid charge and the nucleic acid cycle. These ideas are based on observations of differences in intensity of staining. Intensity of staining is, however, an unreliable indication of the total DNA present in a nucleus unless the volume of the nucleus is considered, and this has usually not been done.»

HUSTED, HOPKINS et MOORE (1945) ont étudié les chromosomes du Hamster doré, non seulement chez le mâle, mais aussi chez la femelle. Certains ovocytes où l'appariement méiotique ne s'est pas produit présentent des divisions très claires et un certain nombre de métaphases I ont été analysées. Sur divers points, les auteurs américains ne sont pas d'accord avec KOLLER: a) Le nombre $2N$ est de 44 et non de 38; b) Une cinèse (♀) montre deux chromosomes nettement plus grands que tous les autres; l'attachement en est submédian (1/1,9); ce rapport est très différent de celui donné par KOLLER ($1/4$ à $1/5$). L'identification de l' Y par KOLLER ne correspond pas bien à celle de HUSTED et de ses collaborateurs qui supposent que KOLLER a considéré comme Y un élément autosomique subterminal.

Des observations faites sur les métaphases I de la ♀, il résulte que les deux X ne manifestent aucune des particularités allocycliques si frappantes dans les stades correspondants du ♂. Et l'association des X , chiasmatique, se fait uniquement par les bras courts, alors que, chez le ♂, c'est le bras long qui s'unit avec l' Y . Cette dernière constatation est la contre-partie exacte de ce que j'ai vu chez *Microtus agrestis* (1950) où, chez le ♂, le bras long de l' X s'unit avec l' Y , alors que chez les femelles l'union des deux X se fait invariablement par un chiasma sis dans le bras court.

En somme, nous avons à résoudre plusieurs questions relatives au nombre diploïde, à l'identification de l' X et de l' Y dans les divisions spermatogoniales, à l'occurrence de la pré- et de la post-réduction. Accessoirement, et pour pouvoir aborder la cytologie comparée des *Cricetinae* de l'Ancien-Monde, une analyse morphologique fouillée est nécessaire.

Les mitoses que l'on trouve dans le testicule adulte ne se prêtent guère à des investigations approfondies. J'ai dessiné (fig. 46) la mieux fixée des nombreuses métaphases que j'ai rencontrées, et, comme le montre la figure, quatre points (indiqués par deux signes conventionnels) demeurent douteux. La numération aboutit au chiffre de 44, sans entraîner une conviction totale. On remarquera le nombre élevé de métacentriques; les deux plus grands éléments ressortent nettement du lot et constituent une paire hétéromorphe, l' X présumé ayant des bras sub-égaux, alors que l' Y se distingue par un attachement sub-médian, environ $1/2$. L'analyse de cette figure confirme donc l'identification de KOLLER.

Pour obtenir des cinèses plus claires, j'ai recouru au testicule du nouveau-né. Alors que chez la Souris (MATTHEY 1936), c'est à l'âge de

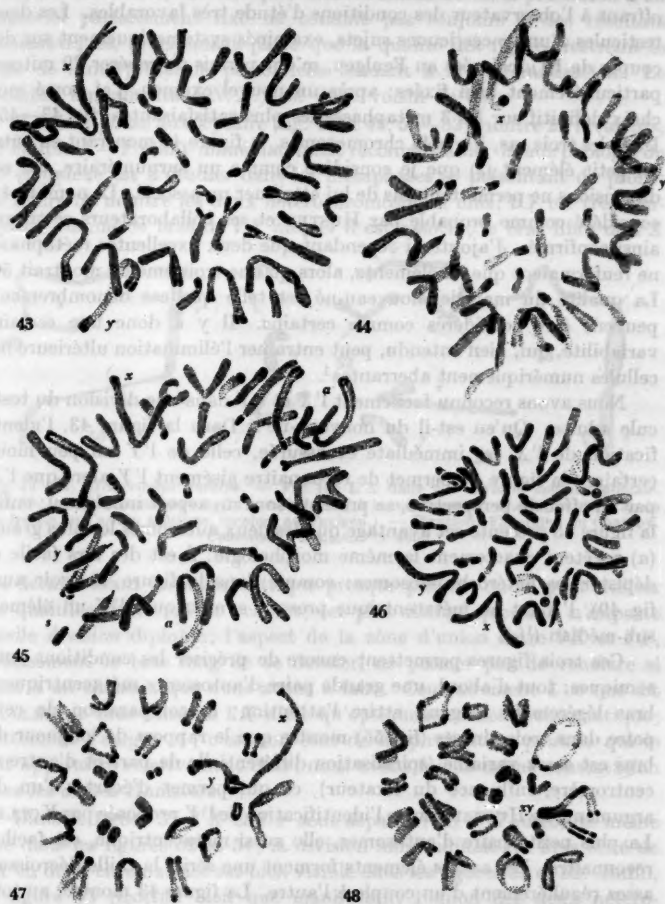


Fig. 43—48. *Mesocricetus auratus*. Fig. 43—46: Divisions spermatogoniales. Fig. 47—48: Métaphases I. — Fixation: Flemming ou Champy. Coloration: Feulgen (43, 44, 45, 47, 48) ou Heidenhain (46). $\times 4050$.

4 jours, chez le Rat à celui de 5 (GUÉNIN 1948), chez le Mulot à celui de 7 (MATTHEY 1947) que les grandes mitoses des spermatogonies primaires font leur apparition (antérieurement, il n'y a que des divisions d'éléments

végétatifs), il faut, chez le Hamster doré, attendre le 13ème jour. On trouve alors des métaphases de grande taille, admirablement étalées, offrant à l'observateur des conditions d'étude très favorables. Les deux testicules d'un de ces jeunes sujets, examinés systématiquement sur des coupes de 10μ colorées au Feulgen, m'ont permis de repérer 29 mitoses particulièrement bien fixées; après un nouvel examen, j'ai porté mon choix définitif sur les 3 métaphases les plus satisfaisantes (fig. 43—45). Dans les trois cas, il y a 44 chromosomes, la figure 45 montrant en outre un petit élément (*s*) que je considère comme un surnuméraire, car ses dimensions ne permettent pas de lui attribuer un associé. Le nombre 44, considéré comme probable par HUSTED et ses collaborateurs se trouve ainsi confirmé. J'ajouterai cependant que deux excellentes métaphases ne renfermaient que 42 éléments, alors qu'une troisième en montrait 50! La qualité du matériel nouveau-né est telle que ces dénombrements peuvent être considérés comme certains. Il y a donc une certaine variabilité, qui, bien entendu, peut entraîner l'élimination ultérieure des cellules numériquement aberrantes¹.

Nous avons reconnu facilement l'*X* et l'*Y* dans une division du testicule adulte. Qu'en est-il du nouveau-né? Dans la figure 43, l'identification de l'*X* est immédiate et assurée, celle de l'*Y* un peu moins certaine; la figure 44 permet de reconnaître aisément l'*Y* alors que l'*X*, par un effet de perspective, se présente sous un aspect inhabituel; enfin, la figure 45 présente cet avantage que les deux autosomes les plus grands (*a*) revêtent exactement la même morphologie; il est dès lors facile de dépister les hétérochromosomes: comme dans la figure 46 (voir aussi fig. 49), l'*X* est un métacentrique presque symétrique, l'*Y* un élément sub-médian ($1/2$).

Ces trois figures permettent encore de préciser les conditions autosomiques: tout d'abord, une grande paire d'autosomes métacentriques à bras légèrement inégaux attire l'attention; la comparaison de cette paire dans trois cinèses (fig. 55) montre que le rapport de longueur des bras est assez variable (spiralisation différentielle de part et d'autre du centromère, influence du fixateur), ce qui permet d'écarter l'un des arguments de HUSTED contre l'identification de l'*Y* proposée par KOLLER. La plus petite paire d'autosomes, elle aussi métacentrique, est facile à reconnaître. Les autres éléments forment une série, la taille décroissant assez régulièrement d'un couple à l'autre. La figure 43 montre, au total (donc y compris les hétérochromosomes et les deux paires extrêmes) 18 couples métacentriques et 4 couples sub-acrocentriques; ces chiffres, pour la figure 44 sont 17 et 3, deux paires ayant un aspect télacentrique; enfin, dans la figure 45, nous trouvons de nouveau les valeurs 17, 3, 2.

¹ Remarquons d'ailleurs que de nombreux auteurs (par exemple, ALLEN) considèrent que ces grandes cellules sont destinées à dégénérer.

Une fois de plus se vérifie cette conclusion paradoxale et sur laquelle j'ai souvent insisté, à savoir que, chez les Mammifères, la possession d'un matériel parfaitement fixé ne conduit pas toujours à des résultats schématiques, précisément parce que la qualité des figures restreint le rôle de l'interprétation personnelle tendant à la systématisation. Le nombre fondamental (*N. F.*) est donc voisin de 80.

La métaphase auxocytaire (fig. 47 et 48, 50—53) montre 22 bivalents, le couple X—Y étant immédiatement reconnaissable; la morphologie de ce complexe est à étudier dans les métaphases se présentant de profil: la figure 50 montre les deux hétérochromosomes unis; l'Y est très contracté, comme le bras de l'X auquel il est associé; le bras libre de l'X

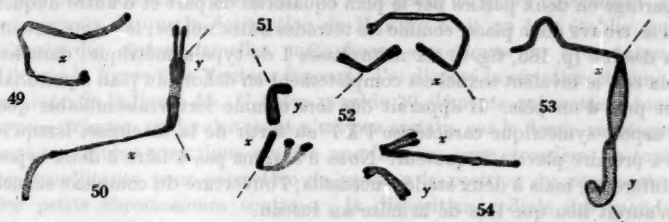


Fig. 49—54. *Mesocricetus auratus*. — Fig. 49: L'X dans une division spermatogoniale. Fig. 50—54: Différents aspects du complexe XY à la métaphase I. (La figure 53, d'après un frottis au Carmin acétique, recoloré au Feulgen.) — Fixation: Flemming ou Champy. Coloration: Feulgen. $\times 4050$.

(ce dernier étant un métacentrique presque parfait, on ne peut utiliser les qualificatifs «long» et «court») est plus allongé que dans n'importe quelle division diploïde; l'aspect de la zone d'union entre l'X et l'Y, précisément le bras long de ce dernier, ne permet pas de conclure si c'est à un chiasma que nous avons à faire. Contrairement à ce que dit KOLLER, le bras étiré de l'X n'est qu'optiquement hétérochromatique; nettement Feulgen +, c'est son état de désérialisation poussée qui le fait apparaître relativement clair; nous avons fait la même constatation chez les autres Hamsters.

Dans la figure 51, l'X et l'Y sont séparés l'un de l'autre, de même que dans les figures 52 et 54; la division longitudinale du bras étiré de l'X en deux chromatides est bien visible dans les figures 51 et 52. Enfin, la figure 53 (frottis) bien que manifestant l'union des deux hétérochromosomes, ne permet pas de préciser le mode d'association.

En somme, mes observations sur la métaphase I concordent assez bien avec celles de KOLLER, tout au moins en ce qui touche le type de bivalent sexuel, dit asymétrique. Le seul point sur lequel nous ne sommes pas d'accord concerne la pseudo-hétérochromatie négative, pour moi purement optique, du bras étiré.

Qu'en est-il du type symétrique impliquant la post-réduction ? Chez le Hamster doré, comme dans les deux espèces précédemment étudiées, je ne l'ai jamais rencontré bien que mon attention fût spécialement fixée sur ce point. Si nous admettons avec KOLLER que l'union des deux hétérochromosomes est de nature chiasmatisque, et l'étude de *Cricetulus griseus* rend cette hypothèse vraisemblable, il faut alors supposer que le segment pair ne s'étend pas au delà du centromère. Cependant, une étude attentive des dessins de KOLLER (1938) me suggère une autre explication, éventuellement applicable au cas d'*Arvicola sherman* (RENAUD 1938, MATTHEY 1938). KOLLER a représenté (p. 182, fig. 4) six métaphases I de type asymétrique; dans les six cas, l'XY se trouve partagé en deux parties par le plan équatorial de part et d'autre duquel il se trouve donc placé, comme les tétrades autosomales; le même auteur a dessiné (p. 183, fig. 5) six métaphases I de type symétrique; dans les six cas, le bivalent sexuel est complètement en dehors du plan équatorial et près d'un pôle. Il apparaît dès lors comme fort vraisemblable que l'aspect symétrique caractérise l'XY au sortir de la diacinèse, lorsqu'il va prendre place à l'équateur. Nous n'aurions pas à faire à deux types différents, mais à deux stades successifs; l'ouverture du complexe sexuel n'aurait lieu que lors de la mise au fuseau.

Il est en tout cas frappant de constater que, bien que l'union chiasmatisque de l'X et de l'Y soit certaine chez *Cricetulus griseus* et probable chez les deux Hamsters, aucune figure de post-réduction n'a été rencontrée au cours d'observations prolongées. Si, en 1950, je me suis prononcé, bien qu'avec beaucoup de réserve, en faveur de la théorie de KOLLER et DARLINGTON, je suis de plus en plus enclin, devant l'accumulation des faits qui parlent contre elle, à la considérer comme une simple et ingénieuse vue de l'esprit.

Comparaison de *Cricetus cricetus*, *Cricetulus griseus* et *Mesocricetus auratus*.

Si les trois *Cricetinae* paléarctiques étudiés dans ce travail ont des hétérochromosomes de forme très semblable, une différence nous est cependant apparue: à la métaphase I, l'X paraît associé au bras long de l'Y chez *Cricetulus* et *Mesocricetus*, au bras court chez *Cricetus*. Il y a là une distinction que l'observation suggère et sur la valeur de laquelle il est permis d'hésiter. Si la différence est réelle, elle devrait être attribuée à une position du segment pair qui ne serait pas la même chez *Cricetus* que chez les deux autres espèces. Etant donné le bouleversement morphologique qu'introduit, à la métaphase I, d'une part la dés spiralisation du segment différentiel, d'autre part l'épaississement et la contraction des portions paires, ce dernier processus étant peut-être lié à l'établissement d'une spirale majeure, il est bien difficile d'être affirmatif et les

adjectifs «long» et «court» du chapitre qui précède doivent être pris dans un sens simplement descriptif, valable pour la métaphase I et pour celle-ci seulement. C'est ainsi que le bras «court» de l'Y auxocytaire de *Cricetus* peut encore correspondre au bras «long» du même chromosome dans les divisions spermatogoniales; il n'est en effet nullement exclu que le bras libre de l'Y subisse, lui aussi, un processus de désérialisation, chez *Cricetus cricetus*. En ce qui concerne l'X, presque rigoureusement métacentrique dans les trois espèces, la distinction ne peut avoir de sens.

Passons maintenant à la cytologie comparée, en ajoutant à mes données celles que MAKINO (1951) a récemment publiées sur *Tscherkia triton* (les *Tscherkia* représentant un sous-genre du genre *Cricetulus*). Il est regrettable que la description de MAKINO n'ait pu être établie que d'après des cinèses femelles, métaphases somatiques ou ovocytaires. D'après la figure 2 de l'auteur japonais, j'ai disposé la sériation chromosomique de la figure 55. *C. triton* possède 30 éléments qui seraient tous acrocentriques; ce dernier point n'est pas certain, car le dessin représentant une cinèse somatique montre une fixation assez grossière, en tout cas insuffisante pour permettre de préciser la position du centromère des petits chromosomes centraux; la disposition radiale des grands éléments périphériques atteste par contre le caractère acrocentrique de ceux-ci. En comparant les caryogrammes de *C. triton* et de *C. griseus* (fig. 55), on est immédiatement amené à penser que les 8 paires autosomiques les plus grandes de *C. triton* correspondent aux 4 paires de métacentriques autosomiques les plus développées de *C. griseus*. Les deux *Cricetulus* diffèrent donc essentiellement par des fusions centriques. La morphologie des hétérochromosomes, ceux-ci ayant été arbitrairement désignés comme les chromosomes les plus longs de *C. triton*, parle par contre en faveur d'un mécanisme d'inversion ayant transféré vers les extrémités de l'X le centromère médian chez *C. griseus*. La proche parenté des deux espèces est une notion parfaitement admissible pour le cytologiste.

Cricetus cricetus a la même formule chromosomique que *Cricetulus griseus* et la proche parenté des deux genres est évidente: il est en effet totalement improbable que deux lignées évolutives de *Cricetinae* aient abouti à des assortiments chromosomiques si étonnement pareils. Et ceci d'autant plus que nous devons considérer cette formule ($2N = 22$) comme très aberrante par rapport à ce que nous pouvons envisager comme statut primitif: il est très probable que les *Muridae*, dans leur ensemble, ont évolué à partir d'un stock dont le *N. F.* était de 48. Cette valeur caractérise encore les *Apodemus* et des chiffres voisins se rencontrent chez *Rattus*, *Mus*, certains Campagnols, comme chez *Sigmodon*, *Cricetinae* du Nouveau-Monde.

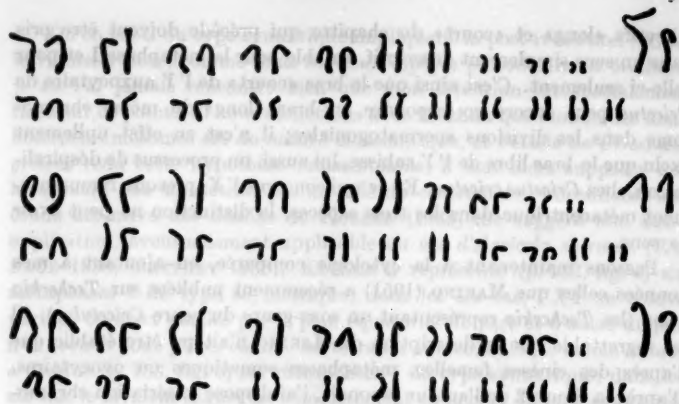
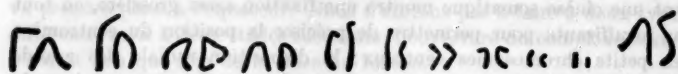
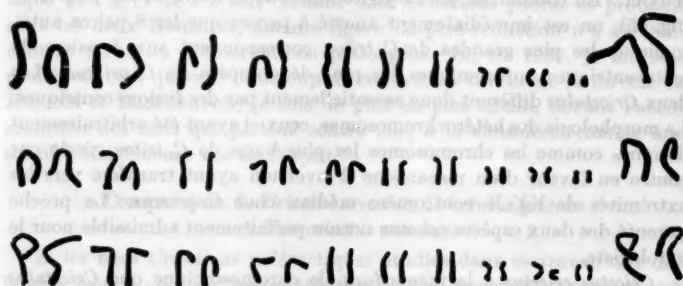
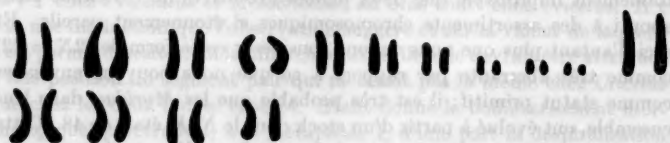
*Mesocricetus auratus**Cricetus cricetus**Cricetulus griseus**Cricetulus (Tscherkia) triton*

Fig. 55. Caryogrammes de *Mesocricetus auratus*, *Cricetus cricetus*, *Cricetulus griseus*, *Tscherkia triton* (ce dernier d'après MAKINO, 1951).

L'évolution chromosomique des *Cricetus* et *Cricetulus* peut donc être essentiellement attribuée à des fusions centriques répétées, avec perte de centromères. Et c'est ici qu'intervient le cas du Hamster doré, doté de 44 chromosomes. Dans les rangées supérieures des trois caryogrammes relatifs à cette espèce (fig. 55), j'ai composé un assortiment chromosomique semblable à celui de *Cricetus* et de *Cricetulus*; cette composition est formée de la plus grande et de la plus petite des paires autosomiques, de l'X—Y (ces 6 éléments étant faciles à identifier), enfin de 8 paires choisies arbitrairement. La seconde rangée nous montre alors ce que *Mesocricetus* a en plus des deux autres espèces. Ce mode d'arrangement a l'avantage d'exclure d'emblée une hypothèse de polyploidie que la comparaison des nombres diploïdes aurait suggérée¹. Mais une question d'ordre méthodologique se pose: les chromosomes des trois espèces ont été dessinés au même grossissement, sans être pour autant immédiatement comparables quant à leurs dimensions: les caryogrammes de *Mesocricetus* ont été établis par l'analyse des grandes mitoses spermatogoniales du testicule prélevé chez le nouveau-né de 13 jours; ceux des deux autres espèces dérivent de figures représentant les cinèses beaucoup plus petites que l'on trouve dans le testicule adulte. Il est donc nécessaire de trouver un coefficient de réduction: j'ai cherché à calculer celui-ci par deux méthodes: 1. en mesurant le diamètre maximum d'un métaphase de spermatogonie primaire (testicule du nouveau-né) et celui d'une métaphase de spermatogonie secondaire (testicule adulte), on obtient un rapport de 1/1,5; 2. en mesurant la longueur de l'X dans les figures 45 et 46 (la forme de l'hétérochromosome est tout à fait la même dans ces deux dessins), on trouve un rapport de 1/1,3. Nous arrivons donc à la conclusion qu'il faut multiplier par 1,4 environ la longueur des chromosomes dans les cinèses adultes pour que cette longueur puisse être comparée à celle des chromosomes dans les divisions du nouveau-né. Or, la longueur totale des chromosomes dans les trois cinèses de *M. auratus* est égale à: 92,8—101,1—96,3; chez *Cricetulus*, cette longueur devient: 56,5—67,6—64,9. L'unique division de *Cricetus cricetus* livre le chiffre de 68,7.

Nous avons donc: *M. auratus*: moyenne = 96,7

C. griseus: „ = 63

En utilisant 1,4 comme coefficient de correction, nous aboutissons à 96,7 pour la première espèce, 80,2 pour la seconde, ce qui semble montrer que la longueur totale des chromosomes de *Mesocricetus* est supérieure de $\frac{1}{6}$ ème à celle de *Cricetulus*.

Cependant, si nous établissons notre moyenne entre deux chiffres seulement, en choisissant pour chaque espèce ceux qui sont proches l'un

¹ Le diamètre des hématies est maximum pour *C. cricetus* ($5,2\mu$), minimum pour *Cricetulus* ($4,4\mu$) et de $4,7\mu$ chez *Mesocricetus*, donc en corrélation avec la taille de l'animal.

de l'autre (*M. auratus*: 92,8 et 96,3 — *C. griseus*: 67,6 et 64,9), nous arrivons, après correction par le coefficient 1,4 au rapport

$$\frac{186,9 \text{ (Mesocricetus)}}{189,1 \text{ (Cricetulus)}}$$

soit à 1. Enfin, en mesurant les chromosomes d'une cinèse provenant d'un *Mesocricetus* adulte (fig. 46), j'obtiens 69,1, c'est à dire un chiffre approximativement égal à ceux que nous avons trouvés chez *Cricetus* et *Cricetulus*. La longueur totale des chromosomes est donc la même chez les trois espèces. Comment devons-nous alors imaginer le passage d'une formule à l'autre ?

Une première question se pose: les conditions chromosomiques de *M. auratus* sont-elles plus primitives que celles des deux autres espèces ? On répondra affirmativement: le nombre $2N = 22$ (*Cricetus* et *Cricetulus*) est très insolite pour un Euthérien et nous avons vu que seules des fusions centriques répétées permettaient de l'expliquer. En procédant à partir d'un ancêtre à 48 chromosomes acrocentriques, nous aurions, dans ce cas, le schéma :

$$48 A \longrightarrow 24 M$$

Or, chez *Mesocricetus*, la plupart des chromosomes sont métacentriques; il existe donc une seconde voie évolutive, basée sur des inversions péri-centriques ramenant le centromère d'une extrémité vers le milieu de chaque chromosome et cette voie peut être représentée comme suit :

$$48 A \longrightarrow 48 M$$

Le principe du « changement homologue » (WHITE 1945) constate, mais n'explique pas cette tendance qui fait que tous les chromosomes d'un organisme évoluent de la même façon. S'il en est bien ainsi, l'évolution chromosomique des *Muridae* peut être résumée, dans ses grandes lignes, par le dispositif que voici

$$\begin{array}{l} \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \rightarrow 24 M \\ 48 A \swarrow \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \rightarrow 48 M \longleftrightarrow 96 A \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \rightarrow 48 M \end{array}$$

c'est à dire que les nombres modaux (WHITE) seront 24—48—96. Les valeurs intermédiaires, fréquemment rencontrées, correspondent à des types où le changement homologue est en cours de réalisation. Pour nous, il y a peu de doute que ces processus soient réversibles. Enfin, remarquons que l'évolution chromosomique semble largement indépendante de l'évolution des caractères sur lesquels les systématiciens fondent les catégories de leur discipline: à l'intérieur d'un même genre, nous avons constaté des différences (*C. griseus* et *C. triton*) très nettes, alors que les représentants de deux genres différents (*Cricetus* et *Cricetulus*) ont des formules chromosomiques morphologiquement semblables.

Ces quelques indications représentent les linéaments d'une hypothèse de travail exigeant l'examen de nombreuses espèces.

Conclusions.

1. Les conditions chromosomiques de 6 Muridae ont été établies:

Murinae	<i>Microtus pennsylvanicus</i>	2N = 46
	<i>Microtus guentheri</i>	2N = 54
Cricetinae	<i>Sigmodon hispidus</i>	2N = 54
	<i>Cricetus cricetus</i>	2N = 22
	<i>Mesocricetus auratus</i>	2N = 44
	<i>Cricetulus griseus</i>	2N = 22

2. Toutes ces espèces — dont trois n'avaient jamais été étudiées — ont une digamétie de type X—Y. Les dimensions et la forme des hétérochromosomes varient beaucoup d'une espèce à l'autre; à la métaphase I, il y a pré-réduction dans tous les cas observés; aucune figure de post-réduction n'a été rencontrée; la présence de chiasmas unissant l'X et l'Y est certaine chez *Cricetulus*, probable dans tous les cas où les hétérochromosomes ont un bras court bien développé.

3. La formule chromosomiale de *Sigmodon hispidus* a été établie d'une manière exacte par CROSS (1931), erronée par MULDAL (1947). Par contre, les données relatives à *Cricetulus griseus* et à *Mesocricetus auratus* ne correspondent pas à celles qui ont été publiées respectivement par PONTECORVO (1943) et KOLLER (1938); en ce qui concerne *Mesocricetus auratus*, mes constatations sont en accord avec celles de HUSTED, HOPKINS et MOORE (1945).

4. L'étude cytologique ne confirme pas la vue des systématiciens, d'après laquelle *Microtus pennsylvanicus* (américain) et *M. agrestis* (européen) seraient des espèces jumelles.

5. Les *Cricetinae* américains diffèrent cytologiquement beaucoup des trois espèces paléarctiques étudiées; chez ces dernières, les hétérochromosomes sont les éléments les plus grands de l'assortiment chromosomique.

6. L'évolution chromosomique des *Murinae* et des *Cricetinae* implique certainement des processus robertsoniens (fusions centriques et dédoublement de métacentriques) et des inversions. Le principe du «changement homologue» (WHITE 1945) se manifeste clairement.

Auteurs cités.

BOVEY, R.: Les chromosomes des Chiroptères et des Insectivores. Rev. suisse Zool. 56, 371—460 (1949). — CASPERSSON, T.: The nucleus in normal and pathological cells studied with quantitative cytochemical methods. In: Acidi nucleinici, proteine e differenziamento normale e patologico. Torino, 1949. — CROSS, J. C.: A comparative study of the chromosomes of rodents. J. Morph. and Physiol. 52, 373—396 (1931). — ELLERMAN, J. R.: The families and genera of living rodents. London 1940/41. — GUÉNIN, H. A.: Les hétérochromosomes dans l'ovogénèse des mammifères. *Epimys norvegicus* ERXL. et *Mus musculus* L. J. Genet., 49, 23—37

- (1948). — HUGHES-SCHRADER, S.: The chromosomes of mantids (*Orthoptera: Mantodeidae*) in relation to taxonomy. *Chromosoma* (Heidelberg) **4**, 1—55 (1950). — HUSTED, L., J. T. HOPKINS jr. and M. B. MOORE jr.: The X-bivalent of the golden hamster. *J. Hered.* **36**, 93—96 (1945). — KOLLER, P. C.: The genetical and mechanical properties of the sex-chromosomes. IV. The golden Hamster. *J. Genet.* **36**, 177—195 (1938). — Control of nucleic acid charge on the X-chromosome of the hamster. *Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B* **133**, 313—326 (1946). — MAKINO, S.: Studies on the murine chromosomes. I. Cytological investigations of Mice included in the genus *Mus*. *J. Fac. Sci. Hokkaido I. U.*, VI. s. 7, 305—380 (1941). — Studies on the murine chromosomes. III. A comparative study of chromosomes in five species of *Rattus*. *J. Fac. Sci. Hokkaido I. U.*, VI. s. 9, 21—57 (1943). — Studies on murine chromosomes. VI. Morphology of the sex-chromosomes in two species of *Microtus*. *Annot. Zool. Jap.* **23**, 63—68 (1950). — Karyotype of *Tscherkia triton* (*Muridae-Cricetinae*). *Kromosomo* **8**, 311—312 (1951). — MATTHEY, R.: Le problème des hétérochromosomes chez les mammifères. *Archives de Biol.* **47**, 319—383 (1936). — Contribution nouvelle à l'étude des hétérochromosomes chez les mammifères et singulièrement chez les rongeurs. *J. Genet.* **36**, 73—102 (1938). — Encore les hétérochromosomes des *Apodemus*. *Arch. Klaus-Stiftg* **22**, 85—92 (1947). — Quelques formules chromosomiales. *Sci. Genet.* **3**, 23—32 (1947). — Les chromosomes des Vertébrés. Lausanne 1949. — Les chromosomes sexuels géants de *Microtus agrestis* L. *Cellule* **53**, 162—184 (1950). — La formule chromosomique de *Microtus orcadensis* MILLAIS. Remarques méthodologiques et discussion critique. *Rev. suisse Zool.* **58**, 201—213 (1951). — MISSEY, A. E.: Some chemical aspects of the cell nucleus. In *Genetics in the 20th century*. New York 1951. — MULDAL, S.: In 38., 39. et 40. „Annual report“ John Innes horticultural institution. Hertford 1947—1949. — OGUMA, K.: Absence of the Y-chromosome in the vole *Microtus montebelli* Edw. with supplementary remarks on the sex-chromosomes of *Evolomys* and *Apodemus*. *Cytologia* (Fujii Jubil.-Bd.) **1937**, 796—808. — PONTECORVO, G.: Meiosis in the striped hamster (*Cricetus griseus* MILNE-EDW.) and the problem of heterochromatin in mammalian sex-chromosomes. *Proc. Roy. Soc. Edinburgh, Ser. B* **62**, 32—42 (1943). — RENAUD, P.: La formule chromosomiale chez sept espèces de *Muscardinidae* et de *Microtinae* indigènes. *Rev. suisse Zool.* **45**, 349—383 (1938). — TATEISHI, S.: Chromosomes of *Microtinae*. *Zool. Mag., Japan* **49**, 1—2 (1937). — WHITE, M. J. D.: *Animal cytology and evolution*. Cambridge 1945.

Prof. Dr. ROBERT MATTHEY, Laboratoire de Zoologie,
Université de Lausanne, Lausanne (Schweiz).

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Göttingen
und dem Max Planck-Institut für Meeresbiologie, Abt. H. BAUER, Wilhelmshaven.

**CHROMOMERENKONSTANZ UND SPEZIFISCHE
MODIFIKATIONEN DER CHROMOSOMENSTRUKTUR
IN DER ENTWICKLUNG UND ORGANDIFFERENZIERUNG
VON CHIRONOMUS TENTANS.**

Von

WOLFGANG BEERMANN.

Mit 45 Textabbildungen und 2 Falttafeln.

(Eingegangen am 20. März 1952.)

Inhalt.

	Seite
A. Einleitung	140
B. Material und Methoden	141
1. Zuchtverfahren	141
2. Präparationstechnik	142
C. Der Chromosomenbestand	142
1. Allgemeine Morphologie der Speicheldrüsen-Chromosomen	142
2. Das Querscheibenmuster	144
D. Die Entwicklung der Speicheldrüsen-Chromosomen	148
1. Frühere Angaben	148
2. Entwicklung der Speicheldrüsen-Chromosomen bei <i>C. tentans</i>	149
E. Die Chromosomen aus anderen Geweben im Vergleich mit den Speichel- drüsen-Chromosomen	159
1. Frühere Angaben	160
2. Allgemeine Beschreibung	160
a) Die untersuchten Gewebe	160
b) Größenverhältnisse und äußere Morphologie	161
c) Homologenpaarung	164
d) Terminale Vereinigung der Chromosomen	165
3. Das Querscheibenmuster	166
F. Gewebe- und funktionsspezifische Strukturmodifikationen	170
1. Allgemeines	170
2. Balbiani-Ringe der Speicheldrüsen-Chromosomen	170
a) Struktur und Funktion	170
b) Variabilität	174
3. Modifikationen anderer Art	177
a) Vorkommen, Struktur und Funktion	177
b) Variabilität	178
G. Diskussion der Ergebnisse	185
1. Polytanie und Spiralstruktur	185
2. Querscheibenkonstanz und Strukturmodifikationen	191
Zusammenfassung	194
Literatur	196

A. Einleitung.

Seit der Untersuchung von HEITZ und BAUER (1933) ist bekannt, daß die sogenannten Schleifenkerne der Dipteren Riesenchromosomen enthalten, die in Anzahl und relativen Dimensionen den mitotischen Chromosomen entsprechen und deren strukturelle Gliederung in der Längsachse — das Querscheibenmuster — konstant und artspezifisch ist. Bei *Drosophila* konnten damit den genetischen Chromosomenkarten cytologische an die Seite gestellt werden (PAINTER, BRIDGES) und durch geeignete Experimente einzelnen Genen bestimmte Querscheiben zugeordnet werden (MACKENSEN 1935 u. a.). Es wurde als selbstverständlich vorausgesetzt, daß das Querscheibenmuster der meist untersuchten Speicheldrüsen-Chromosomen direkt die Anordnung der Gene auch in mitotischen Chromosomen widerspiegelt. Der geforderte ontogenetische Zusammenhang zwischen normalen und Riesenchromosomen kam in der Vorstellung zum Ausdruck, letztere stellten Bündel aus einer Vielzahl von stark gestreckten Chromosomen dar, die durch Vermehrung und Beieinanderbleiben der Chromonemen normaler Chromosomen entstanden seien (KOLTZOFF 1934, BRIDGES 1935, BAUER 1935). Ihre Hauptstütze erhielt die Polytäniehypothese durch die Untersuchungen BAUERS (1935, 1936) über die Fibrillenstruktur der Speicheldrüsen-Chromosomen von Chironomiden.

In jüngster Zeit haben jedoch KOSSWIG und SENGÜN (1947a, b, c), SENGÜN und KOSSWIG (1947) und SENGÜN (1948, 1949) auf Grund ihrer Befunde an *Chironomus* und *Drosophila* eine andere Auffassung über Entwicklung und Struktur der Riesenchromosomen der Dipteren geäußert: Zwischen den nach der letzten embryonalen Teilung in den Ruhekern eingehenden Chromosomen und ihrer Genanordnung einerseits und den herangewachsenen Riesenchromosomen und ihrem Querscheibenmuster andererseits soll danach keinerlei direkter Zusammenhang bestehen; vielmehr trete während der Entwicklung eine komplizierte Umordnung des „chromatischen Materials“ ein, so daß primär in der Längsrichtung liegende Elemente unter Fragmentierung die späteren Querstrukturen liefern. Demnach hätte die cytologische Lokalisierung der Gene nur beschränkten Wert, ganz im Sinne R. GOLDSCHMIDTS (1950), welcher annimmt, daß jeder genetische Locus einem größeren, mehrere Querscheiben umfassenden Chromosomenabschnitt entspricht. Die grundsätzliche Bedeutung dieser Frage und das cytologische Interesse, welches die von KOSSWIG und SENGÜN postulierten, mit den üblichen Vorstellungen über den Chromosomenbau nur schwer zu vereinbarenden Umbauprozesse besitzen, erforderten ihre Neuuntersuchung.

Für die Anregung zu dieser Arbeit und das stete Interesse an ihrem Fortgang schulde ich Herrn Prof. Dr. K. HENKE großen Dank; ebenso herzlich danke ich

Herrn Prof. Dr. H. BAUER, der die Arbeit durch zahlreiche Ratschläge, unablässige Kritik und großzügige Überlassung aller Arbeitsmöglichkeiten seiner Abteilung entscheidend gefördert hat.

B. Material und Methoden.

1. Zuchtverfahren.

Die Untersuchungen wurden vorgenommen an *Chironomus* (*Camptochironomus*) *tentans* FABR. Die Untergattung *Camptochironomus*, die in Europa nur durch die 2 Arten *tentans* FABR. und *pallidivittatus* MALLOCH vertreten ist, zeichnet sich dadurch aus, daß Einzelpaarungen in kleinen Gefäßen vorgenommen werden können, womit eine kontrollierte Zucht möglich wird. Die Tiere wurden als Larven im Plöner „Drecksee“ gesammelt und entweder direkt untersucht oder zur Weiterzucht verwendet. Vor anderen, ähnlichen Larven sind sie kenntlich an dem dunklen, keilförmigen Fleck auf der Kopfkapsel (mündliche Mitteilung von Herrn Prof. THIENEMANN). *C. tentans* ist die größere Form mit den größeren Riesenchromosomen und besitzt eine längere Entwicklungsdauer.

Zur Aufzucht der Larven wurden glasgedeckte Aquarien, Einmachgläser und große Glasschalen benutzt. Die Zahl der zur Verpuppung kommenden Larven richtet sich in erster Linie nach der Bodenfläche der Gefäße (möglichst mehr als 100 cm² bei normalen Gelegen). Den Imagines muß ausreichender Flugraum zur Verfügung stehen (Deckelhöhe über der Wasseroberfläche etwa 10 cm). Ein geeignetes Futter ist Erlenfallaub. Es muß schon einige Monate am Boden verrottet sein, darf also nicht vor Einbruch des Winters gesammelt werden. Die Aufbewahrung erfolgt in getrocknetem Zustand. Die Zuchtgefäße zur Aufnahme der jungen Larven werden 1–2 cm hoch mit Wasser gefüllt; dazu kommen eine Handvoll zerriebenen Laubes (etwa 3 g je 100 cm² Bodenfläche) und die gleiche Menge in Wasser aufgeweichter Zellstoffwatte; beides wird gut miteinander vermengt. Gelegentliches Umrühren und Wechsel des Wassers, besonders mit Beginn der Verpuppung, sind vorteilhaft.

Die Imagines werden in Glasröhrchen (Durchmesser 3–4 cm), auf deren Boden sich etwas Wasser befindet, aufbewahrt. Sie bleiben so etwa 3 Tage am Leben, im Eisschrank (5° C) bis zu 14 Tagen. In den gleichen Röhrchen werden auch die Paarungen vorgenommen; die Eiablage erfolgt meist in den frühen Morgenstunden, wobei das Weibchen in kurzer Zeit — es werden etwa 3 Eier/sec abgelegt — ein Gelege von bis zu 3000 Eiern (meist etwa 1500) produziert und anschließend ins Wasser abgesetzt. Hier quillt es dann zu der bekannten wurstförmigen Gallerte auf. Die Gelege werden bis zum Schlüpfen der Larven in kleinen Deckelschälchen (Salznäpfchen) mit reinem Wasser aufbewahrt.

Bereits 2 Std nach der Ablage läßt sich an der Abschnürung der Polzellen erkennen, ob die Eier befruchtet sind. Bei Zimmertemperatur dauert die Embryonalentwicklung rund 3 Tage. Für die Postembryonalentwicklung lassen sich nur Mindestzeiten angeben, da auch bei gutgehenden Kulturen die Werte um Wochen auseinanderliegen können. Bei Erlenlaubfütterung und Zimmertemperatur beträgt die Mindestdauer jedes der ersten 3 Larvenstadien etwa 1 Woche, die des 4. etwa 2 Wochen; die Gesamtentwicklung wird also günstigstenfalls in 5 Wochen durchlaufen. Im allgemeinen ist mit 8 Wochen von Generation zu Generation zu rechnen. In Schalen von 15 cm Durchmesser schlüpfen in 4 Wochen etwa 20 Imagines, in größeren entsprechend mehr. Viele Tiere sterben als Puppen ab. Larven des 4. Stadiums lassen sich monatelang mit wenig Futter im Eisschrank aufbewahren.

2. Präparationstechnik.

Für die vergleichenden Untersuchungen erwiesen sich im allgemeinen die in Plön gesammelten großen Larven den im Labor gezüchteten überlegen. Zum Studium der Entwicklung der Speicheldrüsen-Chromosomen wurden dagegen nur Labortiere verwendet. Zur Präparation der verschiedenen Organe wurden die Larven abgetrocknet und ohne Zugabe von Ringerlösung dekapitiert. Länger währende Operationen, insbesondere an Puppen und Imagines, die wenig Hämolymphe enthalten, wurden unter Paraffinöl vorgenommen. Als Fixiermittel diente in allen Fällen Alkohol-Eisessig (3:1); eine Einwirkungszeit von $\frac{1}{2}$ min genügt meist vollkommen. Zur Untersuchung der Speicheldrüsen junger Larven (1. und 2. Stadium) erwies es sich als vorteilhaft, die Tiere total zu fixieren, dann Kopf und Abdomen zu entfernen und erst in der Farblösung die Drüsen freizulegen. Speicheldrüsen großer Larven wurden nur mit Karminessigsäure (KE), und zwar in der von BAUER (1945) angegebenen Weise gefärbt (Abpräparieren der Zellen vom Sekret während der Differenzierung in 50%iger Essigsäure) und dann in Euparal überführt. Zur Untersuchung anderer Gewebearten und besonders der Entwicklungsstadien der Speicheldrüsen-Chromosomen bewährten sich in Orcein-Eisessig-Milchsäure (OEM) gefärbte Frischpräparate (gleiche Teile Eisessig und Milchsäure, 1% Orcein Merck). Vorfärbung in KE verhindert dabei übermäßiges Visköswerden der Zellstrukturen und zu rasche Überfärbung der Chromosomen. Nur zum Studium schlecht färbbarer Einzelheiten (mitotische und meiotische Prophasen, sehr junge Riesenchromosomen) empfiehlt sich direkte Färbung mit OEM. Die Orceinfärbung erreicht erst nach einigen Tagen ihr Maximum; man kann daher die Präparate zunächst mit Phasenkontrast- und dann mit normaler Optik untersuchen. Die Haltbarkeit der OEM-Präparate, auch nach Umrandung, ist begrenzt (etwa 6 Wochen); sie können wie KE-Präparate — bei Verwendung von Eiweißobjektträgern — in Euparal überführt werden, nur löst sich das Deckglas schwerer ab. Lebendbeobachtungen wurden an Paraffinölpräparaten vorgenommen.

Die Phasenkontrastuntersuchung (Zeiß-Winkel Immersion Ph 90) hat sich nicht nur bei lebenden Zellen, sondern gerade auch bei gefärbten (KE und OEM) Chromosomen außerordentlich bewährt. Sonst nur blaßrot getönte Strukturen erscheinen hier fast schwarz wie nach einer Eisenhämatoxylinfärbung. Zeichnungen wurden in üblicher Weise mit dem ABRESCHEN Zeichenapparat entworfen. Die Photos sind sämtlich Leica-Aufnahmen.

C. Der Chromosomenbestand.

1. Allgemeine Morphologie der Speicheldrüsen-Chromosomen.

Bei den Chironomiden lassen sich Anzahl und Größenverhältnisse der Chromosomen im allgemeinen einfach durch die Untersuchung der Speicheldrüsenkerne erwachsener Larven ermitteln, da die heterochromatischen Zonen in der Umgebung des Spindelansatzes, wo sie vorkommen, nicht zu Sammelchromozentren vereinigt sind („Bibio-Typ“ nach BAUER 1935). Über größere interkalare heterochromatische Abschnitte oder vollkommen heteropyknotische Chromosomen ist bisher bei Chironomiden nicht berichtet worden.

Die Speicheldrüsen wurden möglichst großen (über 25 mm langen) Larven des 4. Stadiums entnommen; jede enthält etwa 40 Zellen. Bei der unregelmäßigen Gestalt der Kerne läßt sich ihr Durchmesser nur

abschätzen. Das Volumen der größten Kerne (im Leben) entspricht etwa dem einer Kugel von $100\ \mu$ Durchmesser. Dimensionen und Bau der in ihnen enthaltenen Chromosomen gestalten hier die Verhältnisse sehr übersichtlich. Da, wie bekannt, die Homologen in der Regel eng miteinander gepaart sind, findet man im allgemeinen die haploide Anzahl vor. Dieser haploide Satz besteht bei *Chironomus tentans* wie bei fast allen untersuchten Chironomusarten aus einem kurzen und drei langen Chromosomen. Von den beiden längsten Chromosomen wird dasjenige als 1. bezeichnet, welches keinen Nukleolus besitzt, das andere als 2.; das als 3. bezeichnete Chromosom trägt ebenfalls einen Nukleolus, ist aber etwas kürzer als das 1. und 2.; das kurze Chromosom wird wie



Abb. 1a—c. Drei Spermatogonienmetaphasen. KE-OEM; 2700mal.

üblich als 4. bezeichnet. Bei allen 4 Chromosomen wird das stärker gespreizte Ende das rechte genannt. Heterochromatin läßt sich nur am linken Ende des 4. Chromosoms, wahrscheinlich seinem Spindelansatz, nachweisen. In der natürlichen Population treten zahlreiche Inversionen in allen Chromosomenarmen auf. Sie sollen in einer späteren Arbeit im einzelnen beschrieben werden.

In Spermatogonienmitosen (Abb. 1) erscheinen die 3 langen Chromosomen V-förmig, mit etwa gleichlangen Schenkeln, das kurze 4. Chromosom als Stäbchen.

Typische Speicheldrüsen-Chromosomen von *Chironomus tentans* bilden kompakte Zylinder, deren Enden in bestimmter Weise abgeplattet und fächerartig gespreizt sind, während über ihre Länge eine Reihe von Einschnürungen in charakteristischer Anordnung verteilt ist (vgl. Tafeln 1 und 2). Die Oberfläche erscheint nie ganz glatt; leichte Buckel und Dellen, gelegentlich auch Spalten spiegeln den inneren Aufbau des Chromosoms wider (vgl. S. 158). An Masse übertreffen Speicheldrüsen-Chromosomen entsprechend der Größe der Speicheldrüsenkerne alle anderen Chromosomen. Ihre Länge in KE-Präparaten kann bis zu $270\ \mu$ (1. Chromosom) betragen, ihr Durchmesser bis zu $20\ \mu$. Das Volumen des 1. Chromosoms erreicht maximal etwa $40000\ \mu^3$ (zugrunde gelegt ist als mittlerer Durchmesser der Querscheibe 18B1) und kann innerhalb der gleichen Drüse von Zelle zu Zelle stark schwanken, entsprechend der Streuung der Kernvolumina,

Tabelle 1. Dimensionen des 1. Speicheldrüsen-Chromosoms in 2 Individuen (a und b).

	Anzahl der gemessenen Chromosomen	Mittleres Volumen in $\mu^3 \pm 3 m$	Länge in μ			Durchmesser in μ			Durchmesser/Länge in % Mittelwert $\pm 3 m$
			Mittel $\pm 3 m$	maximal	minimal	Mittel $\pm 3 m$	maximal	minimal	
a	30	19300 ± 3900	141 ± 9	175	110	13,0 $\pm 1,1$	16,5	9,5	9,1 $\pm 0,6$
b	30	20700 ± 3800	213 ± 13	270	165	11,0 $\pm 0,9$	15,5	8,0	5,2 $\pm 0,5$

während das Verhältnis von Durchmesser und Länge relativ konstant bleibt; zwischen beiden besteht innerhalb des gleichen Tieres eine positive Korrelation (z. B. in einem Fall $r = +0,93$), von Tier zu Tier dagegen wechselt das mittlere Längen/Durchmesser-Verhältnis, wie die vorstehende Tabelle 1 an 2 Beispielen zeigt.

2. Das Querscheibenmuster.

Von den 4 Speicheldrüsen-Chromosomen wurden cytologische Chromosomenkarten gezeichnet (Tafel 1 und 2). Die relativen Längen der 4 Chromosomen stellen abgerundete Mittelwerte aus Messungen an 29 Kernen dar; sie verhalten sich wie 1,0:1,0:0,8:0,3. Ihr mittlerer Durchmesser entspricht einem Durchmesser/Längen-Verhältnis von 1:20 für das 1. Chromosom. Durch eine Reihe von Messungen wurden die relativen Abstände und der Durchmesser einer Anzahl von stärker hervortretenden Querscheiben bestimmt. Diese Daten bilden die Grundlage der Kartenzeichnungen; das restliche Querscheibenmuster wurde nach Einzelzeichnungen eingetragen und durch weitere Beobachtungen ergänzt und berichtigt. Dabei sind sicher noch nicht alle Querscheiben erfaßt; am weitesten ist die Karte des 3. Chromosoms vervollständigt.

Die Karten geben im allgemeinen die in der (zahlreiche Inversionen aufweisenden) Plöner *C. tentans*-Population jeweils am häufigsten vorgefundene Scheibenfolge wieder. Die charakteristischen Balbiani-Ringe bzw. Auflockerungszonen des 4. Speicheldrüsen-Chromosoms (vgl. S. 170) sind ebenfalls in der normalen, unter natürlichen Verhältnissen beobachteten Ausprägung dargestellt; beigelegt wurde die Scheibenanordnung ohne Ausbildung von 1. und 2. Auflockerungszone. Im übrigen wurde die scharfe Ausprägung der Querscheiben als ihre normale betrachtet; einige Stellen wurden bisher nur in diffuser Ausprägung gefunden und mußten als solche eingezeichnet werden, z. B. im 2. Chromosom im Unterabschnitt 1 A und im 3. Chromosom im Unterabschnitt 14 C.

Zahl und Anordnung der auffälligeren Querscheiben lassen die Einteilung der beiden größten Chromosomen in 20 Regionen von annähernd gleicher Länge zu. Das 3. Chromosom wurde dementsprechend in 16,

das 4. in 6 Regionen gegliedert. Die Regionen werden in jedem Chromosom fortlaufend von links nach rechts mit Zahlen bezeichnet. Jede Region besteht aus den 3 Unterabschnitten A, B und C. Der unvermeidbar künstliche Charakter dieser Gliederung kommt in der ungleichmäßigen Anzahl von Querscheiben in den verschiedenen Unterabschnitten zum Ausdruck. Die einzelne Scheibe selbst kann im allgemeinen schon sicher durch ihre Lage relativ zu den Abschnittsgrenzen gekennzeichnet werden; ein direktes Abzählen ist bei dem gegenwärtigen Stand der Analyse nur in einigen Unterabschnitten möglich. Die Lokalisation des Spindelansatzes der langen Chromosomen und damit die genaue Abgrenzung von linkem und rechtem Chromosomenarm war bisher nicht möglich. Es kommen hierfür folgende, nicht von Inversionen betroffenen medianen Bereiche in Frage: 1. Chromosom, Region 10—12; 2. Chromosom, Region 10B bis 12B; 3. Chromosom, Region 10B bis 11B.

Die Nukleolen wurden in den Karten nicht dargestellt; sie sind bekanntlich Aggregate extrachromosomalen, thymonukleinsäurefreien Materials, die an ganz bestimmten Stellen der Chromosomen gebildet werden.

Bei den mitotischen Chromosomen sind dies nach HEITZ (1931) die sekundären Einschnürungen, bzw. nach MCCLINTOCK (1934) an diese angrenzende heterochromatische Bezirke („nucleolar organizers“). Auch für die Riesenchromosomen der Dipteren ist mehrfach die konstante Lage der Nukleolenbildungsorte nachgewiesen worden (HEITZ und BAUER 1933, KING und BEAMS 1934, GEITLER 1934, KAUFMANN 1938), jedoch ohne den Versuch ihrer genauen Lokalisation. Diese ist deshalb schwierig auszuführen, weil die Speicheldrüsen-Chromosomen an den in Frage kommenden Stellen meist stark aufgespalten sind (BAUER 1935, POULSON und METZ 1938 u. a.). Die Kontinuität des Chromosoms und seiner Längselemente bleibt dabei selbstverständlich erhalten, wenn auch das Querscheibenmuster gestört erscheint.

Bei *Chironomus tentans* ermöglichte das Vorkommen von in der Struktur nahezu unveränderten Nukleolenbereichen die Identifizierung der eigentlichen Bildungs-„Zentren“ (in den Karten mit „N“ bezeichnet). Sie scheinen in beiden Fällen, im 2. und im 3. Chromosom, jeweils in einem Zwischenscheibenabschnitt zu liegen, der durch blasse Färbung und Vakuolisierung meist etwas hervortritt (vgl. Abb. 25a). Es sei ausdrücklich betont, daß weder die Bildungsstelle selbst, noch die angrenzenden Querscheiben im üblichen Sinne heterochromatisch sind, wenn man nicht, wie POULSON und METZ (1938), umgekehrt die Tatsache der Nukleolenbildung als Kriterium für das Vorhandensein von Heterochromatin ansieht; auch bei anderen Chironomiden werden die Nukleolen häufig in rein euchromatischen Bereichen gebildet. Normalerweise sind bei *Chironomus tentans* die an die Nukleolenbildungsorte anschließenden Abschnitte der Speicheldrüsen-Chromosomen stark aufgespalten; dies wurde in den Karten nicht dargestellt.

Schon in schlechten Präparaten fällt die konstante Lage einiger durch ihre starke Färbung und charakteristische Anordnung hervortretender Querscheibengruppen auf: Solche leicht auffindbaren „Marken“ gestatten in Verbindung mit anderen Bezugspunkten (Nukleolen, Inversionsgrenzen, Einschnürungen, Endabschnitte) die Identifizierung nicht nur der ganzen Chromosomen, sondern auch einzelner Abschnitte, wie im folgenden kurz dargestellt wird. Es ist dabei zu berücksichtigen, daß Reihenfolge und Zusammenhang der beschriebenen Strukturen bei Vorliegen von Inversionen verändert sein kann.

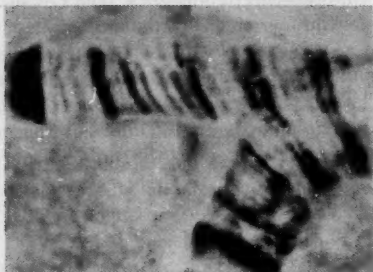


Abb. 2. Homologe Chromosomenabschnitte bei verschiedener Dehnung: Die an der proximalen Grenze der Inversion In2L-ab gelegene Region 10 des 2. Chromosoms ist in ihrem linken Teil ungepaart; der obere Partner läßt infolge zufällig stärkerer Dehnung mehr Querscheiben erkennen.

KE-Euparal; Phasenkontrast, 2000mal.

Selbstverständlich lassen sich selbst bei optimaler Technik nicht alle in den Chromosomenkarten dargestellten Querscheiben in jedem beliebigen Präparat wieder auffinden. Die Deutlichkeit der Chromosomenstruktur wird vor allem durch die Dimensionsverhältnisse beeinflusst: Schlanke Chromosomen lassen mehr Einzelheiten erkennen als gedrungen gebaute, und größere mehr als kleine. Auch bei künstlicher Dehnung nimmt

die Anzahl der erkennbaren Querscheiben zu (BUCK 1942); dieser Effekt kommt in der Abb. 2 zum Ausdruck. Die Analysierbarkeit der Präparate ist außerdem wesentlich von der „Exaktheit“ der Scheibenstruktur abhängig. BAUER (1936) weist bereits auf den „unordentlichen“ Bau der Speicheldrüsen-Chromosomen einiger Chironomiden hin, der darauf zurückgeht, daß die Teil-„Chromomeren“ (Granula) der Scheiben nicht genau auf gleicher Höhe liegen. *Chironomus tentans* gehört zu den Formen mit relativ exakt geordneter Chromosomenstruktur; der Grad der Ordnung ist aber von Tier zu Tier recht unterschiedlich und wahrscheinlich von Umweltbedingungen abhängig. Unter natürlichen Verhältnissen aufgewachsene Larven ergeben die klarsten Präparate; einzeln herangezogene Labortiere sind günstiger als in Massenkulturen gehaltene. Im 1. Speicheldrüsen-Chromosom wurden bisher etwa 500, im 2. etwa 400, im 3. etwa 380 und im 4. etwa 170 Querscheiben festgestellt. Die Zahlen sind deshalb unbestimmt, weil es oft nicht entschieden werden kann, ob einfache oder doppelte Querscheiben vorliegen.

Die folgende Beschreibung gilt für Speicheldrüsen-Chromosomen erwachsener Larven.

Dem 1. Chromosom fehlt ein Nukleolus. Das linke Ende erscheint in den Regionen 1C—3 keulig aufgetrieben und der durch eine Einschnürung abgesetzte äußerste Endabschnitt nur wenig fächerförmig verbreitert. Leicht zu erkennen sind 2 Gruppen von 2 bzw. 3 Scheiben im Unterabschnitt 2A einschließlich der Scheibe 2B1. Eine charakteristische Gruppe von 2 Doppelscheiben befindet sich ungefähr in der Mitte des Chromosoms, im Unterabschnitt 9A. Die rechte ist häufig diffus verquollen und erscheint dann wesentlich blasser. Weiter rechts schließt sich ein Gebiet von zahlreichen feinen Querscheiben an (10A—11A einschließlich), das nur von einzelnen stark gefärbten Scheiben unterbrochen wird. Sehr auffällig sind dann 5 dicht aufeinanderfolgende Gruppen von Scheiben in den Abschnitten 12A—13A. Auch die „Lücke“ im Abschnitt 14A kann man leicht identifizieren. Das rechte Drittel des Chromosoms schließlich wird eindeutig durch eine meist stark angeschwollene Nebennukleolenzone im Unterabschnitt 17B (vgl. Abb. 36), durch die Gruppe von 3 Doppelscheiben (18A—19A) und die fächerförmige Spreizung des Endabschnittes gekennzeichnet. Die beiden letztgenannten Marken sind außerordentlich charakteristisch.

Das 2. Chromosom ist das längere der beiden nukleolentragenden Elemente. In seinem linken Drittel liegt eine durch eine Doppelscheibe gekennzeichnete Einschnürung (5A), der links eine auffällige Gruppe von 5 abwechselnd dunklen und hellen Doppelscheiben benachbart ist (4B, C). Rechts schließt sich eine Anschwellung an: besonders die Unterabschnitte 6A und 6B sehen dabei leicht aufgelockert aus. Im mittleren Drittel des Chromosoms ist im Unterabschnitt 10A eine an eine Lücke angrenzende Gruppe von zahlreichen feinen, dunklen Querscheiben gut zu erkennen, ebenso die unterbrochene kräftig gefärbte Scheibe links neben der Doppelscheibe im Unterabschnitt 12A. Der rechte Arm des Chromosoms enthält auffallende Querscheibengruppen in den Unterabschnitten 13A—B und 14B—15B. Besonders charakteristisch ist jedoch die Einschnürung in der Region 19, die beiderseits von „konzentrisch“ angeordneten, kräftig gefärbten Scheiben eingefaßt wird. Der rechte Endabschnitt ist fächerförmig erweitert, jedoch in anderer Weise als bei 1R: Die Außenkanten des Fächers erscheinen leicht konvex.

Das 3. Chromosom, welches ebenfalls einen Nukleolus bildet, ist deutlich kürzer als das 2. Chromosom. In seinem linken Arm fällt unmittelbar eine im Bereich einer Anschwellung gelegene, sehr stark gefärbte, zusammengesetzte Querscheibe auf; im gleichen Unterabschnitt (5B) findet man 2 weitere kräftig hervortretende Scheiben. Auch die „Dreiergruppe“ im Abschnitt 3C ist leicht zu erkennen, ebenso die in der Nachbarschaft des Nukleolus liegende Lücke (8C). Eine ähnliche Lücke im Abschnitt 12A grenzt das rechte Drittel des Chromosoms ab: hier finden sich eine stark gefärbte diffuse Querscheibe im Unter-

abschnitt 13B und zwei charakteristische Scheibengruppen in 15A und 15B. Der rechte Endabschnitt erscheint nie so stark gespreizt, wie bei den beiden anderen langen Chromosomen.

Das 4. Speicheldrüsen-Chromosom besitzt neben dem Heterochromatin-„Kopf“ und den Auflockerungszonen eine weiter ausgezeichnete Stelle in der Einschnürung im Abschnitt 5A. Eine kräftig hervortretende Querscheibengruppe, die aus einer Doppel- und einer einfachen Scheibe besteht, liegt im Abschnitt 1C. Charakteristisch ist ferner eine hell erscheinende Lücke zwischen den beiden ersten Auflockerungszonen in 2C, sowie die Anordnung der Scheiben in 4A—B. Weitere markante Querscheiben sind als Abschnittsgrenzen aus der Karte zu ersehen.

D. Die Entwicklung der Speicheldrüsen-Chromosomen.

1. Frühere Angaben.

Als erster hat ALVERDES (1912) den Versuch unternommen, die Entwicklung der Speicheldrüsenkerne von *Chironomus* an Hand von Schnittpräparaten zu klären. Nach ihm besitzt der „Kernfaden“ zunächst Scheibenstruktur, bildet sich dann unter Verwachsen der Scheiben in zwei umeinandergewundene gleichmäßig gefärbte Spiralen um; diesem Stadium folgt eine „seltsame Mischung von Scheiben und Spiralen“, woraus der bekannte quergestreifte Endzustand hervorgeht. Von moderneren Vorstellungen ausgehend, untersuchten BUCK (1937), PAINTER und GRIFFEN (1937) und FROLOWA (1938) die Ontogenie der Riesenchromosomen. Nach BUCK verläuft diese in den Speicheldrüsen von *Sciara* in folgender Weise: In embryonalen Kernen sind die Homologen als zarte, mit Chromomeren besetzte, somatisch gepaarte, jedoch nicht verschmolzene Fäden sichtbar. Erst nach der Teilung jedes der Homologen in 2 Tochterelemente — kurz vor dem Schlüpfen der Larven — beginnt die engere Vereinigung der Chromomeren zu Querscheiben, und die Chromosomen legen sich in Spiralwindungen. Die Spiralisierung geht mit fortschreitendem Längenwachstum in eine unregelmäßige Knäuelung über, wird aber unter fortwährendem Dickenwachstum während des 2. und 3. Larvenstadiums wieder von einer regelmäßigen engen Spiralisierung abgelöst. Schon gegen Ende des 2. Larvenstadiums gleichen die Speicheldrüsen-Chromosomen — abgesehen von geringerer Größe und Anzahl der erkennbaren Querscheiben — denen erwachsener Larven. Das 4. Larvenstadium ist durch weiteres Anwachsen und Rückgang der Spiralisierung der Chromosomen gekennzeichnet.

PAINTER und GRIFFEN beschränken sich in der Darstellung der Entwicklung der *Simulium*-Speicheldrüsen-Chromosomen im wesentlichen auf die Aussage, die Zahl der sichtbaren Längsstränge („chromonemata“) und Granula in den Querscheiben („chromomeres“) verdoppele sich regelmäßig, allerdings nicht an allen Stellen des Chromosoms mit der gleichen Geschwindigkeit, woraus die unterschiedliche „Chromomeren“-Zahl verschiedener Querscheiben resultieren soll. Das Dicken- und Längenwachstum der Riesenchromosomen soll nach PAINTER und GRIFFEN außerdem auf einer Hypertrophie der Chromomeren und der Vergrößerung ihres Abstandes beruhen.

Nach FROLOWA, die verschiedene *Drosophila*-Arten, besonders *D. repleta* untersucht, sind schon in den jüngsten Speicheldrüsenkernen die Homologen in zwei „Chromonemen“ gespalten und umeinander gewunden. Wie bei *Sciara* soll dann eine Verlängerung der Chromosomen unter lockerer Knäuelbildung erfolgen; im Anschluß daran vereinigen sich die Längselemente. Die Riesenchromosomen

wachsen dann unter angeblich nur zweimaliger Verdoppelung der „genomemata“ auf ihre endgültige Größe heran. Genauere Angaben über den Chromosomenformwechsel während des Wachstums enthält die Arbeit nicht, jedoch werden Chromosomen mittlerer Entwicklungsstadien spiralisiert abgebildet.

Den vorstehend zitierten 3 Arbeiten liegt die Vorstellung zugrunde, die Riesenchromosomen entstünden durch Vermehrung und bündelartige Vereinigung der Chromonemen; sie enthalten keine grundsätzlich gegen diese Auffassung sprechenden Beobachtungstatsachen. SENGÜN (1948) glaubt solche jedoch bei der Untersuchung der Entwicklung der *Chironomus*-Riesenchromosomen gefunden zu haben: Die jüngsten Speicheldrüsenkerne (Larvenlänge unter 3 mm) enthalten danach unregelmäßig verteilte „chromatische Körperchen“. In größeren Larven (3 bis 4 mm) lassen sich Chromosomen mit einer „scheibigen Struktur en miniature“ beobachten; in Larven von etwa 4 mm Länge erscheinen sie deutlich spiralisiert¹.

Die Beobachtung nun, daß im Anschluß an das Spiralstadium keine Despiralisierung erfolgt, das Chromosom aber trotzdem sowohl dicker als auch erheblich länger wird, wobei die Querscheiben schließlich senkrecht zur primären Spiralachse liegen, führt SENGÜN zu folgender Anschauung: Die Spirale zerreißt in einzelne Umgänge oder in Gruppen aus einigen Umgängen und bildet so eine Reihe von durch achromatische Substanzen verbundenen Blöckchen, in welchen sich unter Umordnung des chromatischen Materials neue scheibenartige Strukturen herausdifferenzieren, „die parallel der früheren, nicht spiralisierten Längsachse des Chromosoms laufen“. Alle Blöckchen sollen in Wirklichkeit mehrere Spiralumgänge enthalten, welche den konstant erscheinenden späteren Querscheiben entsprechen. Die „Blöckchen“ wachsen dann sowohl in der Dicke, als auch in der Länge heran; zwischen den konstanten Querscheiben entstehen sekundär neue Querscheiben in wechselnder Anzahl. Hierin sieht SENGÜN die Ursache für die Unterschiede in der Anzahl der erkennbaren Scheiben in Chromosomen verschiedener Entwicklungsstadien, verschiedener Gewebe und verschiedener Individuen. Für die Blöckchenhypothese führt SENGÜN ferner an, daß gegen Ende des Spiralstadiums gelegentlich relativ schmale Chromosomenabschnitte beobachtet werden, die die breiteren (Blöckchen) miteinander verbinden. Das Abbrechen der Spiralwindungen selbst konnte SENGÜN bisher nicht beobachten. Die Entwicklung der Riesenchromosomen in den anderen Geweben soll prinzipiell ähnlich verlaufen.

2. Entwicklung der Speicheldrüsen-Chromosomen bei *C. tentans*.

Da die Entwicklungszeit von *Chironomus*-Larven, auch wenn sie alle aus dem gleichen Gelege stammen und in der gleichen Kultur aufgezogen werden, sehr stark schwankt (vgl. auch E. GOLDSCHMIDT 1944), läßt sich ihr Entwicklungszustand innerhalb der einzelnen Larvenstadien nur durch ihre Länge kennzeichnen. Die 4 Stadien unterscheiden sich in der Größe der Kopfkapseln; im 1. Larvenstadium fehlen außerdem die schlauchförmigen Anhänge am 8. Abdominalsegment. Bis zur nächsten Häutung wächst die Larve auf etwas mehr als die doppelte Länge heran; der Durchmesser nimmt im 3. und 4. Stadium nicht in gleichem Maße zu. Larven im 1. Stadium sind von 0,8–2 mm, solche im 2. Stadium von 2,0–5,5 mm, solche im 3. Stadium von 5,5–11 mm lang; ♀-Larven im 4. Stadium können 27 mm lang werden.

¹ Die Ansicht, die Chromosomen seien auf diesem Stadium homogen gefärbt, vertritt Herr Dr. SENGÜN nach mündlicher Mitteilung nicht mehr.

Die Larven beginnen schon am 1. Tag mit dem Gehäusebau, die Speicheldrüsen treten also sofort in Funktion. Ihre Kerne besitzen dann einen Durchmesser von etwa 4μ . Das Wachstum der Speicheldrüsen hält etwa mit dem Längenwachstum der Larven Schritt, so daß der Durchmesser ihrer Kerne zum Schluß ebenfalls das 25–30fache des Ausgangswertes erreicht. Im einzelnen schwanken die Werte beträchtlich; am wenigsten unterscheiden sich die Kerngrößen gleich alter Geschwistertiere. Einen brauchbaren Anhalt für den Entwicklungszustand der Chromosomen liefert demnach nur die direkte Messung der Kerngrößen an der lebenden Larve unter dem Deckglas, wobei zu berücksichtigen ist, daß innerhalb der gleichen Drüse die größten Kerne etwa



Abb. 3. Speicheldrüsenkern einer Larve des 1. Stadiums von 1 mm Länge. Durchmesser des Kernes im Leben etwa 4μ . KE-OEM; 2660mal.

den doppelten Durchmesser der kleinsten besitzen. Die Länge der Larven wird bei der anschließenden Fixierung in Alkohol-Eisessig gemessen, in welchem sich die Tiere um etwa 20% strecken; die oben angeführten Längswerte sind schon um diesen Betrag reduziert. Dimensionsangaben über die Chromosomen selbst beziehen sich auf OEM- bzw. KE-Präparate.

Die Speicheldrüsenkerne frisch geschlüpfter Larven unterscheiden sich von den Kernen anderer Gewebe nur durch den Besitz größerer Nukleolen. Im fixierten und gefärbten Präparat erscheint der Kern (Durchmesser 4μ) von einem lockeren Fadengewirr erfüllt, in welchem einzelne stärker gefärbte knotige Verdickungen erkennbar sind (Abb. 3). Die Fäden selbst sind homogen gefärbt, einzelne Chromosomen lassen sich nicht mit Sicherheit identifizieren. Die „Knoten“ sind nicht mit den Querscheiben späterer Stadien vergleichbar. Wenn man auch in etwas größeren Kernen zuweilen Gruppen von locker ineinander verflochtenen Einzelsträngen zu sehen vermeint, so gibt es doch keinen sicheren Anhalt für eine etwaige 2- oder 4-Strangnatur der Chromosomen auf dieser Stufe, wie sie BUCK und FROLOWA für *Sciara* bzw. *Drosophila* angegeben.

Gegen das Ende des 1. Larvenstadiums beträgt der Durchmesser der Speicheldrüsenkerne $8\text{--}12\mu$. Die Chromosomen haben deutlich an Masse zugenommen und lassen sich oft schon bei der Lebendbeobachtung (Phasenkontrast) als 4 gegeneinander abgegrenzte dunklere Aggregate erkennen. Im fixierten Präparat erscheinen sie als kräftig gefärbte, in wechselndem Grade geknäuelte Elemente (Abb. 4a). An isolierten Chromosomenabschnitten tritt nunmehr die Querscheibenstruktur klar hervor (Abb. 4b); die Querscheiben besitzen unterschiedliche Dicke, Färbung und Abstände; die Homologen sind vollständig gepaart. Die

kleinsten in dieser Weise als Riesenchromosomen ansprechbaren Elemente sind etwa $0,5 \mu$ breit. Ihre Länge in diesen Stadien läßt sich abschätzen, wenn man von der Gesamtzahl der in einem Kern sichtbaren Querscheiben ausgeht. In einem Fall konnten etwa 300 gezählt werden: dies ist der 4. Teil der in großen Speicheldrüsenkernen gut erkennbaren Querscheiben. In Kernen von $8-10 \mu$ Durchmesser kommen auf einen Chromosomenabschnitt von 10μ Länge etwa 15 Querscheiben, in solchen von 100μ Durchmesser nehmen 15 Querscheiben ebenfalls durchschnittlich 10μ in der Längsrichtung der Chromosomen ein. Danach würden die Speicheldrüsen-Chromosomen jetzt etwa $\frac{1}{4}$ ihrer „endgültigen“ Länge erreicht haben. Nicht in allen Kernen einer Drüse findet sich



Abb. 4a u. b. Speicheldrüsenkerne im Knäuelstadium, a aus einer Larve des 1. Stadiums, 2000 mal; b aus einer des 2. Stadiums (Länge 2,2 mm, Kerndurchmesser im Leben 8μ). 2660 mal. KE-OEM; Phasenkontrast, 2000mal.

die gleiche starke Knäuelung; in einigen durchziehen die Chromosomen den Kernraum in nur lockeren Windungen. Dieselben Unterschiede treten auch in den späteren Stadien auf: Man findet fast regelmäßig eine geringe Anzahl von Kernen, die weniger spiralisierte bzw. schlankere Chromosomen enthalten (Abb. 5b, d und Abb. 6). Leider ist die fortlaufende Beobachtung ein- und desselben Kernes im Leben vorläufig nicht durchführbar, so daß die naheliegende Vermutung, es handle sich hier um zyklische Veränderungen im Verlauf der Endomitosen, nicht nachgeprüft werden kann. PAINTER (1941) hält die wechselnden Zustände, in welchen Speicheldrüsen-Chromosomen angetroffen werden, für Phasen der endomitotischen Vermehrung. Bei Larven, die im Wachstum zurückgeblieben sind, scheinen die Chromosomen allgemein stärker geknäuel zu sein; hierzu sei auf den Befund von E. GOLDSCHMIDT (1947) hingewiesen, wonach schneller herangewachsene (Bastard-) Larven

schlankere Speicheldrüsen-Chromosomen als langsam aufgezoogene besitzen.

In Kernen von annähernd $15\ \mu$ Durchmesser (Larvenlänge 2—3 mm) werden schwach geknäuelte Chromosomen bis zu $1,5\ \mu$ breit. Bei starker Knäuelung lassen sich keine Dimensionsangaben machen, wie aus einem Vergleich des 4. Chromosoms in Abb. 5c (in der rechten oberen Ecke)

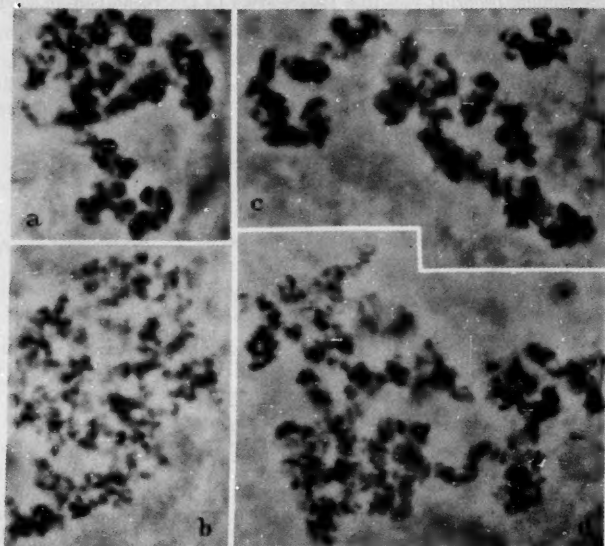


Abb. 5 a—d. Vier Kerne aus der gleichen Speicheldrüse (2. Stadium, Larvenlänge 4,5 mm, Kerndurchmesser im Leben $15\text{--}20\ \mu$). Verschiedene Grade der Knäuelung und Polytänie. KE; Phasenkontrast, 1800mal.

mit dem in Abb. 6 hervorgeht; in beiden Fällen ist das Chromosom infolge Inversionsheterozygotie ringartig geschlossen. In der Abb. 6 sind im 4. Chromosom etwa 50 Querscheiben erkennbar, etwa $\frac{1}{3}$ derjenigen Anzahl, die man in den etwa 3mal längeren 4. Speicheldrüsen-Chromosomen großer Larven beobachtet. Auf Grund ihrer geringen Größe und schlechten Darstellbarkeit ist eine Identifizierung der Querscheiben im Knäuelstadium bisher nicht gelungen.

Mit dem weiteren Wachstum der Chromosomen geht ihre Knäuelung allmählich in eine unregelmäßige Spiralisierung über. Dabei erscheinen sie ähnlich wie die Mitteldarmchromosomen (vgl. Abschnitt E) bandartig flach. Spiralisierte Chromosomen treten in Speicheldrüsenkernen von $15\text{--}20\ \mu$ Durchmesser bei Tieren von 4—5 mm Länge kurz vor der

Häutung zum 3. Stadium auf. Die Spiralisierung ist nicht immer so regelmäßig ausgeprägt wie in den dargestellten Beispielen (Abb. 7 und 8).

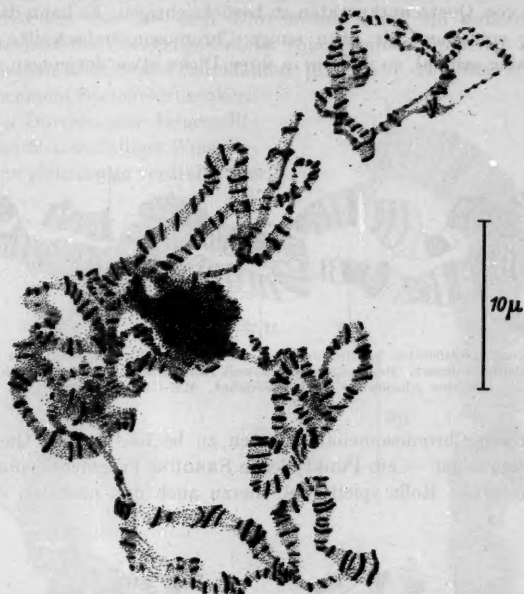


Abb. 6. Speicheldrüsenkern (etwa $15\ \mu$ Durchmesser im Leben) mit nur schwach geknäuelten Chromosomen. Larve des 2. Stadiums, 3,8 mm. KE-OEM; 2000mal.

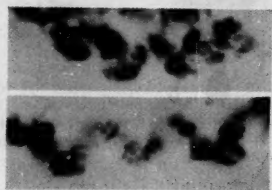
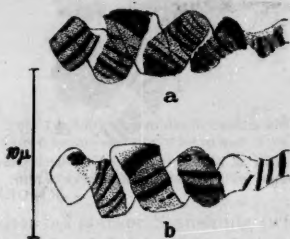


Abb. 7. Speicheldrüsen-Chromosomen im Spiralstadium aus Larven von 5 mm Länge (Kerndurchmesser $20\text{--}25\ \mu$ im Leben). KE; 2000mal.

Abb. 8 a u. b. Regelmäßig spiralsierter Chromosomenarm aus einem Speicheldrüsenkern von etwa $20\ \mu$ Durchmesser im Leben. a In tiefer; b in hoher Einstellung gezeichnet. KE-OEM; 2000mal.



Andere Chromosomen oder Chromosomenabschnitte können bereits jetzt „mäanderartig“ (vgl. den folgenden Absatz) erscheinen oder Über-

gänge zu diesem Zustand zeigen. Dieser Umstand, in Verbindung mit der Neigung der Spiralungänge zum Aneinanderhaften, ist bei der Beurteilung von Quetschpräparaten zu berücksichtigen: Es kann dabei der Eindruck entstehen, als seien einige Chromosomenabschnitte unverhältnismäßig schmal, so daß sie in ihrer Dicke etwa derjenigen der auf

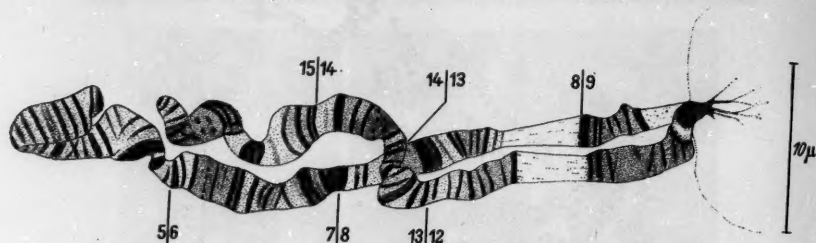


Abb. 9. Wenig spiralsiertes 3. Chromosom (Larve 3.8 mm, Kern etwa 16μ); oben der Nukleolenbildungsort. Regionsgrenzen, soweit identifizierbar, sind eingezeichnet. Einzelne Abschnitte stark überdehnt. KE-OEM; 2660mal.

den breiteren Chromosomenabschnitten zu beobachtenden Querstrukturen entsprechen — ein Punkt, der in SENGÜNS Fragmentierungshypothese eine große Rolle spielt (vgl. hierzu auch den nächsten Absatz).

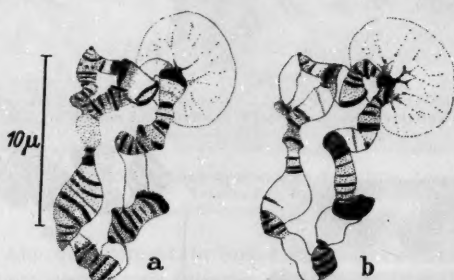


Abb. 10a u. b. Viertes Speicheldrüsen-Chromosom (ringförmig infolge Inversionsheterozygotie) im Spiralstadium (Larve 4 mm, Kern $15-20\mu$). a hohe, b tiefe Einstellung. KE-OEM; 2660mal.

Im Spiralstadium wird das Querscheibenmuster in solchen Abschnitten, die bei der Präparation gestreckter wurden, sehr deutlich; so läßt sich in Abb. 9 bereits die Hälfte der dickeren Querscheiben erkennen und ein großer Teil davon auch identifizieren (s. die eingetragenen Regionsgrenzen). Das abgebildete 3. Chromosom ist etwa $\frac{1}{2}$ mal so lang wie im Endstadium. Am 4. Chromosom (Abb. 10) sind jetzt schon Balbiani-Ringe (vgl. S. 170) zu erkennen; bei etwa 2μ Breite und 40μ Länge

zählt man annähernd 70 Querscheiben, etwas weniger als die Hälfte der „endgültigen“ Anzahl.

In Kernen von 20–50 μ Durchmesser wird ein außerordentlich charakteristisches Übergangsstadium vom spiralisierten in den kompakt-zylindrischen Endzustand durchlaufen; in der Abb. 11 ist das 3. Chromosom aus einem Speicheldrüsenkern von 25 μ Durchmesser dargestellt; es erscheint in auffälliger Weise gefaltet und gleichzeitig verdreht. Da

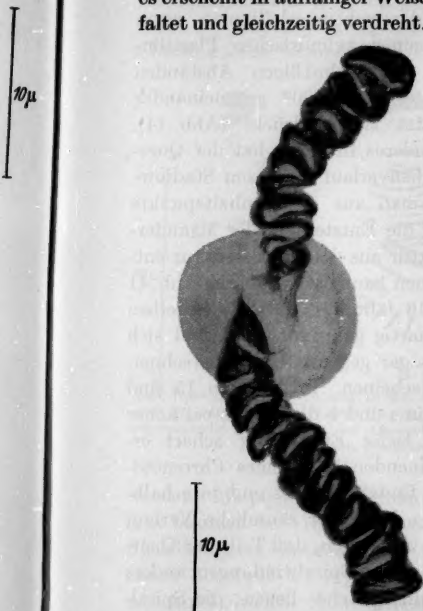


Abb. 11. Drittes Speicheldrüsen-Chromosom im Mäanderstadium, stark gestaucht (Larve 6,5 mm, 3. Stadium, Kern 20–25 μ). KE-Euparal; Phasenkontrast, 2000mal.

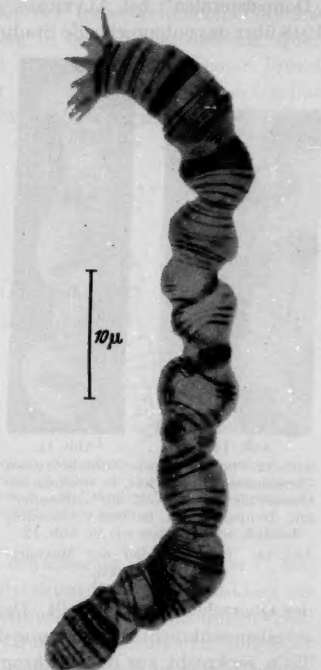


Abb. 12. Linker Arm des 3. Speicheldrüsen-Chromosoms aus einem Kern von etwa 30 μ Durchmesser (Larve 9,5 mm, 3. Stadium). KE-Euparal; 2000mal.

die Konturen des Chromosoms, besonders bei starker Stauchung (wie in Abb. 11), mäanderartig verlaufen, soll dieses Stadium als „Mäanderstadium“ bezeichnet werden. Bei näherer Betrachtung läßt sich nun erkennen, daß das faltige Aussehen auf breite und tiefe Höhlungen oder Wölbungen im Chromosom zurückgeht. Die Vertiefungen sind gegeneinander etwa um 90° versetzt; das wird besonders deutlich in der Abb. 11 am rechten (oberen) Endabschnitt des Chromosoms und in der Abb. 12, die den linken Arm des 3. Chromosoms aus einem größeren

Kern darstellt. Die Randpartien der Vertiefungen erscheinen dicker als ihr Boden. Hierdurch entsteht bei oberflächlicher Betrachtung leicht der Eindruck, als ob die Homologen nur unvollständig gepaart und regelmäßig umeinander gewunden seien; dieser Eindruck wird gut durch die Photographie in Abb. 13 wiedergegeben (vgl. die Zeichnungen von „Doppelspiralen“ bei ALVERDES 1912 und die Angaben von SENGÜN 1948 über das entsprechende Stadium bei Malpighigefäß-Chromosomen!).

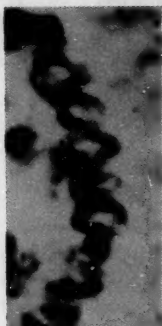


Abb. 13.



Abb. 14.

Abb. 13. Photographische Aufnahme eines Chromosomenabschnittes, in welchem die täuschende Ähnlichkeit der „Mäander“ mit Doppelspiralen (s. Text) besonders deutlich wird. Daten wie in Abb. 12.

Abb. 14. Plastilinmodell der Mäanderstruktur (s. Text).

Ein anschauliches Modell von der Mäanderstruktur erhält man, wenn man einen zylindrischen Plastilinstab in regelmäßigen Abständen und etwa um 90° gegeneinander versetzt tief eindrückt (Abb. 14). Besonderes Interesse hat der Querscheibenverlauf in diesem Stadium, weil man aus ihm Anhaltspunkte über die Entstehung der Mäanderstruktur aus der Spiralstruktur entnehmen kann; schon in den Abb. 11 bis 13 fällt auf, daß die Scheiben eigenartig gekrümmt sind und sich oft sogar gegenseitig zu überschneiden scheinen. In der Abb. 15 sind nun in a und b die jeweils bei hoher und tiefer Einstellung scharf erscheinenden Teile eines Chromosomen-Endabschnittes und in c halb-schematisch der räumliche Verlauf

der Querscheiben dargestellt. Daraus ist zu erschen, daß Teile der Querscheiben senkrecht zur Richtung der ehemaligen Spiralwindungen, andere Teile senkrecht zur neuen Chromosomenhauptachse liegen; die Spiralstruktur ist also im „Mäanderchromosom“ noch enthalten; hierfür spricht auch der Umstand, daß die Anzahl der Wölbungen derjenigen der Spiralwindungen in homologen Chromosomenabschnitten früherer Stadien etwa entspricht. Die Abb. 12 und 15 machen jetzt ohne weiteres verständlich, worauf die SENGÜNSCHE Blöckchenvorstellung beruht: In weniger guten Präparaten wird man tatsächlich den Eindruck gewinnen, als wechselten breite, quergestreifte Chromosomenabschnitte mit dünnen Zwischenstücken ab. Daß weiterhin die Querscheiben hier wie offene Ringe aussehen, hat SENGÜN vielleicht zu der Annahme veranlaßt, sie seien durch Auseinanderbrechen einer kontinuierlichen Spirale entstanden.

Im Mäanderstadium findet ein erhebliches Längen- und Dickenwachstum der Chromosomen statt, wie ein Vergleich der Abb. 11 und 12 zeigt.

Gegen das Ende des 3. und im 4. Larvenstadium werden die für das Mäanderstadium typischen tiefen Höhlungen der Speicheldrüsen-Chromosomen durch weiteres Dickenwachstum allmählich ausgefüllt; dabei stellen sich die Querscheiben immer mehr senkrecht zur früheren Spiralenlängsachse ein; der Anteil an anders geordneten Elementen wird zunehmend geringer; sie erleiden bei der fortschreitenden Polytänisierung eine gegenseitige Verschiebung in dem Sinne, daß die Querscheiben schließlich völlig glatt und eben erscheinen. Dieser Prozeß kann im einzelnen gelegentlich sehr deutlich an den Malpighigefäß-Chromosomen besonders großer Larven und Vorpuppen beobachtet

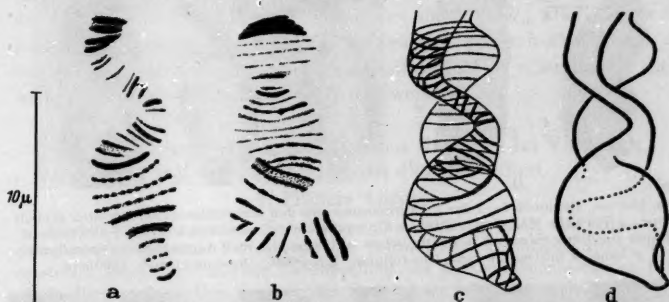


Abb. 15a—d. Region 15 und 16 des 3. Chromosoms aus einem Speicheldrüsenkern von etwa $25\ \mu$ Durchmesser (Larve 7,5 mm, 3. Stadium). a hohe, b tiefe Einstellung; c halbschematische Darstellung des Querscheibenverlaufs; d Umrißzeichnung (tieferliegende Konturen punktiert). KE-OEM; etwa 3500mal.

werden; Malpighigefäß-Chromosomen erwachsener Larven von *C. tentans* besitzen bei erheblich höherer Polytänienstufe und Schlankheit als Speicheldrüsen-Chromosomen des entsprechenden strukturellen Stadiums ebenfalls die typische Mäanderstruktur (Abb. 16 und folgender Abschnitt), welche dann in besonders großen Kernen in den kompakt-zylindrischen Zustand übergeht. Wie sich in Abb. 16b und c erkennen läßt, bildet ein Teil der neuangelegten Fibrillenzüge dünne Lamellen, die sich bis auf enge Schlitzte über den Höhlungen des Chromosoms zusammenschließen und so äußerlich die zylindrische Gestalt herstellen. Die kompakten früheren Randpartien der Vertiefungen springen leistentartig in das Innere der im Chromosom zunächst zurückbleibenden Hohlräume vor (Abb. 16d); die hier gelegenen Teile der Querscheiben behalten vorerst die offenbar noch vom Spiralstadium übernommene schräge Lage bei, während sie in den neuentstandenen Lamellen von vornherein senkrecht zur Chromosomenachse stehen. Durch fortschreitenden Einbau neuer Fibrillenschichten werden schließlich auch die Höhlungen ausgefüllt und die Querscheiben geradegerichtet.

Die frühere Spiralstruktur ist damit also auch noch im fertigen zylindrischen Riesenchromosom maskiert enthalten. Dies kommt in der seit langem (BAUER 1935) bekannten schraubigen Fibrillenstruktur der

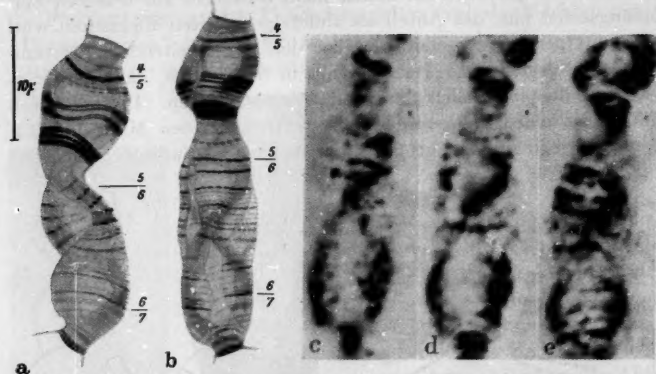


Abb. 16a—e. Regionen 5—7 des 3. Chromosoms aus den Malpighigefäßkernen einer großen Puppe. a Typische Mäanderstruktur; b Übergang zur zylindrischen Form; c—e Stufenaufnahmen zur Demonstration des räumlichen Aufbaues des in b dargestellten Chromosoms; c hohe, d mittlere, e tiefe Einstellung. KE-OEM; Phasenkontrast, 1800mal.

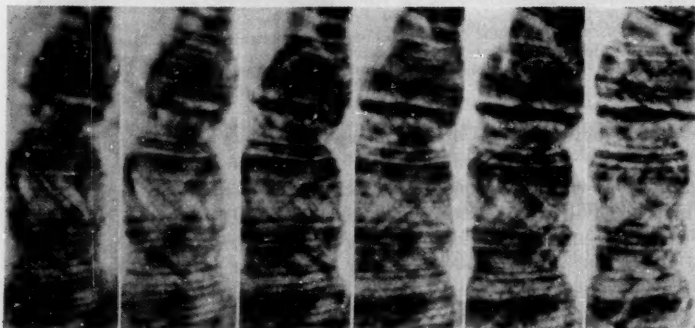


Abb. 17. Stufenaufnahmen eines Chromosomenabschnittes, welcher besonders deutlich die Fibrillenstruktur erkennen läßt (3. Speicheldrüsen-Chromosom, Regionen 4—7). Links hohe, rechts tiefe Einstellung. KE-Euparal, Phasenkontrast, 1000mal.

großen *Chironomus*-Speicheldrüsen-Chromosomen unmittelbar zum Ausdruck, wofür in der Abb. 17 noch einmal ein besonders deutliches Beispiel gegeben ist: In allen optischen Einstellungsebenen, besonders in den peripheren Schichten des Chromosoms, werden hier flache, einander umhüllende und sich gegenseitig anscheinend durchsetzende Fibrillenverbände von schraubigem Verlauf sichtbar. Besonders hervorzuheben

ist der Umstand, daß die Anzahl der Umgänge der Fibrillen offenbar derjenigen der Spiralumgänge und „Mäander“ homologer Chromosomenabschnitte in früheren Polyänisierungsstadien entspricht; diese Übereinstimmung kann allerdings nur für relativ kurze Strecken (z. B. Regionen 5—7 des 3. Chromosoms in Abb. 16) sichergestellt werden, da eine durchgehende Verfolgung des Verlaufs einzelner Fibrillen unmöglich ist.

Mit zunehmender Länge der Chromosomen werden zunehmend feinere Querscheiben sichtbar. Schon bei Kernen von 15μ Durchmesser gelingt, wie erwähnt, in einzelnen Fällen die Homologisierung. In Kernen von über 25μ Durchmesser ist bei nicht allzu starker Stauchung der Chromosomen die Identifizierung von mehr als $\frac{9}{10}$ aller jeweils erkennbaren Querscheiben möglich. Es besteht demnach kein Anlaß, an der Kontinuität des primären Querscheibenmusters während der Entwicklung der Riesenchromosomen zu zweifeln.

E. Die Chromosomen aus anderen Geweben im Vergleich mit den Speicheldrüsen-Chromosomen.

1. Frühere Angaben.

In der postembryonalen Entwicklung der Insekten spielt das Organ- und Gewebewachstum ohne Vermehrung der Zellzahl eine wesentliche Rolle; dabei entstehen unter rhythmischer Verdoppelung des Chromosomenbestandes polyploide Riesenzellen. Der Vorgang der Endomitose selbst unterscheidet sich im Normalfall, z. B. bei den Wanzen (GEITLER 1939), von der Mitose lediglich durch den Fortfall der Ausbildung eines Spindelapparates und das Erhaltenbleiben der Kernmembran. Bei den Dipteren wird auch der Chromosomenformwechsel abgeändert; die Endomitosen führen im allgemeinen zur Bildung von Riesenchromosomen; es kommt nicht wie im normalen Endomitosezyklus der Hemipteren zu einer Kontraktion der verdoppelten Elemente und damit zu einem Zerfall in Spalt-hälften.

Es war schon BALBIANI (1881) bekannt, daß bei den *Chironomus*-Larven außer den Kernen der Speicheldrüsen auch jene der Malpighigefäße und des Darmes einen „Kernfaden“ enthalten. HEITZ und BAUER (1933) führten ihre grundlegende Untersuchung an den Malpighigefäß-Chromosomen von *Bibio* durch, und nach SUTTON (1942) sind diese auch bei *Anopheles* besonders gut analysierbar. GEITLER (1934) stellte für *Simulium* die grundsätzliche Übereinstimmung im Bau der Rieskerne verschiedener Gewebe fest. MAKINO (1938) fand polytäre Chromosomen in den Kernen von Fettkörper, Muskeln, Tracheen, Ganglienzellen und fast allen Teilen des Darmtraktes bei Larven von *Drosophila virilis*. Zu dem gleichen Ergebnis kommen COOPER (1938) und FROLOWA (1938).

Einen erfolgreichen Versuch, das Querscheibenmuster der Riesenchromosomen aus verschiedenen Organen miteinander zu homologisieren, hat zuerst BERGER (1940) unternommen; er fand bei einem Vergleich von Speicheldrüsen- und Mitteldarm-Chromosomen von *Sciara* vollständige Gleichheit in der Anordnung der „landmarks“ und auch in vielen Fällen der dazwischenliegenden feineren Musterelemente („fainter pattern markings“). Ebenfalls in einer kurzen Mitteilung stellt SLIZYNSKI (1950) gegenüber den Befunden von KOSSWIG und SENGÜN (s. unten) ausdrücklich fest, daß es bei *Drosophila melanogaster* keinen Unterschied im

Querscheibenmuster der Chromosomen aus 4 verschiedenen Geweben (Speicheldrüse, Malpighigefäße, Rectum, Fettkörper) gibt.

Demgegenüber kommen KOSWIG und SENGÜN nach vergleichenden Untersuchungen am 4. Chromosom unbestimmter *Chironomus*-Arten¹ zu dem Schluß: „Die Chromosomen sehen in den untersuchten Geweben einer Larve sehr verschieden aus und zeigen große strukturelle Unterschiede. Ihre Größe, die Anordnung und die Zahl der Scheiben sind deutlich verschieden“ (SENGÜN 1948). Verglichen wurden die Chromosomen der Speicheldrüsen, des Rectums, der Malpighigefäße und des Mitteldarms; konkrete Angaben darüber, welche Strukturelemente bei der behaupteten großen Variabilität des Querscheibenmusters mit Bestimmtheit konstant bleiben, oder worin sich die Chromosomen verschiedener Gewebe im einzelnen unterscheiden, finden sich in den Arbeiten von KOSWIG und SENGÜN nicht.

2. Allgemeine Beschreibung.

a) Die untersuchten Gewebe.

Für einen genaueren Vergleich ausreichende Dimensionen in verschiedenen Organen besitzen die Riesenchromosomen der großen *Chironomus*-Arten, wie KOSWIG und SENGÜN gezeigt haben. Mit den Chromosomen der Speicheldrüsen von *C. tentans* werden entsprechend der Auswahl von KOSWIG und SENGÜN in dieser Arbeit die Malpighigefäß-, Mitteldarm- und Rectum-Chromosomen verglichen. Polytäne Chromosomen anderer Gewebe haben entweder, bei ausreichenden Dimensionen, eine „unordentliche“, aufgelockerte Struktur und sind schwer zu präparieren (Oenocyten, Hypodermis und Analpapillen) oder aber sind schon ihrer geringen Größe wegen ungeeignet (restliche Darmabschnitte, Muskulatur, Hypodermis und Fettkörper der Larven, neugebildete Imaginalgewebe). Keine Anzeichen von Polytänie zeigen nur die Kerne der Ganglienzellen (mit Ausnahme einzelner vermutlich neurosekretorischer Zellen) und selbstverständlich der Imaginalscheiben und -anlagen.

Im Gegensatz zu den Speicheldrüsen bleiben die 4 Malpighigefäße während der Metamorphose erhalten; sie scheinen dann aber in der Imago rasch zu degenerieren. Es wurden vorwiegend Malpighigefäße aus Vorpuppen und Puppen verwendet; ihre Chromosomen ergeben wesentlich klarere Bilder des Querscheibenmusters als solche aus larvalen Malpighigefäßen. Auch die Malpighigefäße frisch geschlüpfter Imagines enthalten noch gut analysierbare Chromosomen. Jedes Gefäß besteht aus etwa 30 Zellen; ihre Kerne können einen Durchmesser von 50 μ (im Leben) erreichen.

Zur Untersuchung der Riesenchromosomen im ektodermalen Hinterdarm sind nur die etwa 100 Kerne des großzelligen, im Leben dunkler erscheinenden hinteren Abschnitts, des Rectums, geeignet. Sie besitzen ähnliche Dimensionen wie die Kerne der Malpighigefäße. Es wurden

¹ Die von SENGÜN und KOSWIG 1947 als „*Chironomus* 3“ bezeichnete Art ist nach einem Vergleich der von ihrem Chromosomenbestand gegebenen Abbildung mit der Zeichnung von BAUER (1935) sicher *C. Thummi*.

Recta aus großen Larven, Vorpuppen, und Puppen untersucht. Das larvale Rectum wird wie die Malpighigefäße in die Imago übernommen.

Der Mitteldarm ist aus einer großen Anzahl von Zellen aller Größen aufgebaut. Die größten Kerne sind in seinem Vorderabschnitt zu finden, der etwas erweitert erscheint. Bei der Präparation wurden die Blindsäcke am Eingang des Mitteldarms entfernt. Für die Untersuchung kommen nur Larven in Betracht, da die Histolyse hier schon sehr früh, in der Vorpuppe, einsetzt. Einzelne Kerne des vorderen Mitteldarmabschnitts erreichen ebenfalls 50μ Durchmesser.

b) Größenverhältnisse und äußere Morphologie.

Die Chromosomen der Malpighigefäße, des Rectums und des Mitteldarms weichen in ihrem „Habitus“ erheblich von dem der Speicheldrüsen-Chromosomen ab und zeigen darin auch untereinander charakteristische Verschiedenheiten. Zum Teil kommt das schon in den Befunden KOSWIGS und SENGÜNS zum Ausdruck.

Bei den Malpighigefäß-Chromosomen findet man die vorübergehend auch bei jüngeren Speicheldrüsen-Chromosomen auftretende, weiter oben schon ausführlich dargestellte Mäanderstruktur besonders klar ausgeprägt. Die besten Bilder ergeben, bei nicht zu starker Quetschung, Karmin-Orcein-Frischpräparate von Malpighigefäßen aus Vorpuppen; besonders in Kernen mittlerer Größe zeigen die Chromosomen dann sehr deutlich das charakteristische, faltig-wellige Aussehen (Abb. 18). In homologen Chromosomenabschnitten findet man fast stets die gleiche Anzahl von Wölbungen („Mäandern“, Abb. 19). Auch ihre Form ist charakteristisch, was vor allem an dem helmartigen Endabschnitt des dargestellten 3. Chromosoms hervortritt. Starker Druck auf das Deckglas bei der Präparation führt gelegentlich zur flachen Ausbreitung dieses Endabschnittes, wobei man dann sehr schön seinen lamellären Aufbau erkennen kann (Abb. 20). Die abgebildete „Lamelle“ ist zwischen den Querscheiben „a“ und „b“ von kreisrunden, offenen Lücken durchsetzt, die durch eine Reihe von sehr deutlich quergestreiften Säulchen voneinander getrennt sind; diese Säulchen alternieren mit den Granula der Querscheibe a und den an diese distal anschließenden Teilsträngen; demgegenüber erscheint die Querscheibe b nicht granuliert. Die Bedeutung dieser Beobachtungen wird im allgemeinen Teil diskutiert.

Wie man sich leicht vorstellen kann, lassen sich Chromosomen mit Mäanderstruktur ziehharmonikaartig zusammenschieben und auseinanderziehen; darum sind zu Längenmessungen nur die Malpighigefäß-



Abb. 18. Teil eines Malpighigefäß-Chromosoms, KE-OEM; Phasenkontrast, 1500mal.

Chromosomen besonders hoher Polytäniestufe geeignet, die, wie schon oben erwähnt, die zylindrische Form annähernd erreichen und dabei gleichzeitig resistenter gegen Zerrung werden. Die in der Tabelle 2 zusammengefaßten Daten zeigen, daß die Malpighigefäß-Chromosomen trotz weit geringeren

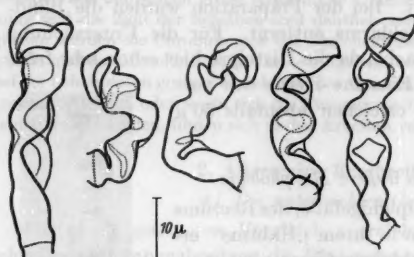


Abb. 19. Der rechte Endabschnitt des 3. Chromosoms aus verschiedenen Malpighigefäßkernen des gleichen Tieres; Umrißzeichnungen. KE-OEM; 1000mal.

Durchmessers die Länge der Speicheldrüsen-Chromosomen noch erheblich überschreiten können.

An kompakter gebauten Malpighigefäß-Chromosomen läßt sich weiter feststellen, daß die Einschnürungen an den gleichen Stellen liegen wie in den Speicheldrüsen-Chromosomen; darüber hinaus

werden auch diejenigen Einschnürungen, welche in den Speicheldrüsen infolge ihrer Lage in unmittelbarer Nähe der stark gespreizten Chromosomenenden nicht zu erkennen sind, sichtbar.



Abb. 20. „Waben“-Bildung in Malpighigefäß-Chromosomen (Region 16 des 3. Chromosoms). Näheres im Text. KE-OEM; 2000mal.

An Rectum-Chromosomen wurden keine Messungen vorgenommen. In den Dimensionen gleichen sie weitgehend den Malpighigefäß-Chromosomen (Tafel 2 und Abb. 41–43). Dagegen ist die Mäanderstruktur schwächer ausgeprägt; auch die Einschnürungen treten weniger hervor. Bemerkenswert ist die Neigung der Rectum-Chromosomen zu allgemeiner Strukturauflockerung; die Ursache dieser Erscheinung ist nicht bekannt.

Einen charakteristischen Habitus besitzen schließlich die Chromosomen aus den Kernen des Mitteldarmes. Sie bilden unregelmäßig spiralisierte, geknäuelte, lange, schmale Bänder, die im Gegensatz zu den

meist der Peripherie angelagerten Rectum-Chromosomen den Kernraum gleichmäßig erfüllen. Im abgewickelten, gestreckten Zustand besitzen sie eine große Ähnlichkeit mit den Speicheldrüsen-Chromosomen von *Drosophila*, sind jedoch, wie schon erwähnt, nicht zylindrisch, sondern bandartig flach gebaut. Ihre Breite schwankt nur unwesentlich, da die Einschnürungen noch weniger hervortreten als bei den Rectum-Chromosomen und die Endabschnitte nicht merklich gespreizt sind. Bei mäßiger Quetschung der Präparate bleibt die spiralförmige Aufwindung

Tabelle 2. Dimensionen des 3. Chromosoms in Speicheldrüsen und Malpighigefäßen des gleichen Individuums.

Organ	Anzahl der Chromosomen	Länge in μ			Durchmesser/ Länge in % Mittel ± 3 m
		Mittel ± 3 m	maxi- mal	mini- mal	
Speicheldrüse	29	142 ± 9	169	114	$7,7 \pm 0,4$
Malpighigefäße	29	164 ± 16	228	117	$3,7 \pm 0,4$

auch nach dem Zerplatzen der Kerne erhalten; dabei läßt sich feststellen, daß die Anzahl der Windungen in bestimmten Chromosomenabschnitten in den meisten Fällen die gleiche ist (Abb. 21). Sie scheint darüber hinaus ungefähr derjenigen der Wölbungen in den homologen Abschnitten der Malpighigefäß-Chromosomen zu entsprechen, wie aus einem Vergleich von Abb. 21 mit Abb. 19 hervorgeht. Die Windungsrichtung

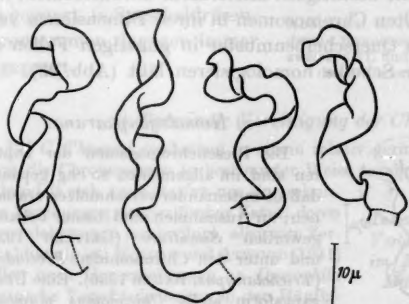


Abb. 21.

Abb. 21. Der rechte Endabschnitt des 3. Chromosoms aus verschiedenen Mitteldarmkernen; Umrißzeichnungen. KE-OEM; 1000mal.

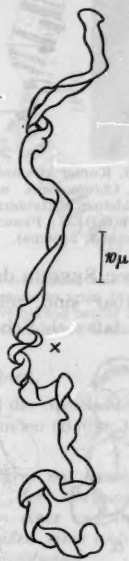


Abb. 22.

Abb. 22. Ein freiliegendes, streckenweise despiralisiertes Mitteldarm-Chromosom; bei \times Verdrillung gegen die Windungsrichtung; oben eine Paarungslücke infolge Inversionsheterozygotie. KE-OEM; 800mal.

bleibt anscheinend weitgehend konstant (Abb. 22); dabei verdreht sich das Band selbst gelegentlich in der Gegenrichtung (\times , Abb. 22). Auch innerhalb der Paarungsschleifen heterozygoter Inversionen findet sich regelmäßige einsinnige Spiralisierung. Nicht selten zeigen die Mitteldarm-Chromosomen auch Übergänge zur Mäanderstruktur, besonders das 4., welches andererseits in den Kernen der Malpighigefäße oft spiralisiert erscheint; der fließende Übergang zwischen Spiral- und Mäanderstruktur wird bei einem Vergleich der Abb. 19 und 21 ohne weiteres deutlich.

Vollständig abgewickelte Mitteldarm-Chromosomen besitzen eine beträchtliche Länge. Da völlige Despiralisierung starke Quetschung voraussetzt und diese stets zu unkontrollierbarer Überdehnung einzelner Regionen führt, sind zuverlässige Längenwerte durch direkte Messung

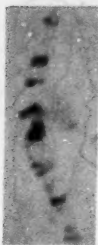


Abb. 23. Kurzer Abschnitt des 3. Chromosoms aus einem kleinen Mitteldarmkern. KE-OEM; Phasenkontrast, 2500mal.



nicht zu erhalten. Ein Vergleich kurzer, von gut zu identifizierenden Querscheiben begrenzter Abschnitte mit den entsprechenden Regionen der Speicheldrüsen-Chromosomen führt jedoch zu dem Ergebnis, daß die Mitteldarm-Chromosomen bis 1,5mal so lang werden. Sie haben also von allen untersuchten Chromosomen das geringste Breiten/Längen-Verhältnis.

Nach SENGÜN (1948) sollen Chromosomen aus kleineren Mitteldarmkernen homogen gefärbt oder aus miteinander abwechselnden, gleich großen gefärbten und ungefärbten Bereichen aufgebaut sein. Diese Beobachtung ließ sich nicht bestätigen: Mitteldarm-Chromosomen, die

den von SENGÜN dargestellten Chromosomen in ihren Dimensionen vergleichbar sind, zeigen das Querscheibenmuster in günstigen Fällen so klar, daß sich Scheibe für Scheibe homologisieren läßt (Abb. 23).

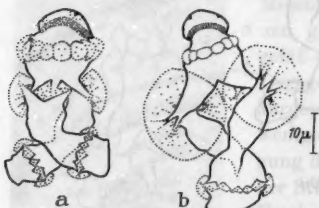


Abb. 24 a u. b. Zwei Typen von Paarungsstörungen im 4. Speicheldrüsen-Chromosom. KE-Euparal; etwa 600mal.

c) Homologenpaarung.

Die Riesenchromosomen der Dipteren sind im allgemeinen so eng gepaart, daß sie miteinander verschmolzen erscheinen; an Ausnahmen sind bisher bekannt geworden *Simulium* (GEITLER 1934) und unter den Chironomiden *Procladius* (*Trichotanyptus*, BAUER 1936). Eine Übergangsform stellt *Chironomus plumosus* dar, dessen Speicheldrüsen-Chromosomen auf weite Strecken unvollständig gepaart sein können; bei *C. Thummi* und *C. bathophilus* schließlich treten nur noch vereinzelt Paarungsstörungen in spezifischen Chromosomenabschnitten auf, ohne daß Strukturheterozygotie nachweisbar wäre (BAUER 1936).

Die Riesenchromosomen von *C. tentans* sind im allgemeinen vollständig gepaart; Paarungsstörungen kommen nur selten und dann fast ausschließlich im 4. Chromosom vor; wie die Abb. 24 zeigt, sind sie in ihrer Ausbildung typisch für das betreffende Individuum: Eine Störung, bei welcher der rechte Endabschnitt des 4. Speicheldrüsen-Chromosoms ungepaart bleibt (a), trat in 29 von 31 daraufhin angesehenen Zellen eines Individuums auf. Eine andere — ungepaarter 2. Balbiani-Ring (b) — wurde in 38 von 41 Zellen eines anderen Individuums festgestellt; in dieser

Larve konnten Paarungslücken von wesentlich geringerem Umfang auch in den 4. Chromosomen der Malpighigefäße, des Rectums und des Mitteldarms aufgefunden werden, waren dort allerdings seltener. Gewebespezifische Unterschiede im Paarungszustand homologer Chromosomenabschnitte haben vielleicht zum Teil nur mechanische Ursachen: Schlanke, langgestreckte Chromosomen können sich offenbar an den Grenzen strukturoheterozygoter Abschnitte vollständiger paaren als kurze, gestauchte. So ist z. B. bei Vorliegen einer langen heterozygoten Inversion im 2. Chromosom der relativ kurze, nicht invertierte Endabschnitt nur in Mitteldarm-Chromosomen regelmäßig gepaart, in Speicheldrüsen-Chromosomen dagegen immer ungepaart.

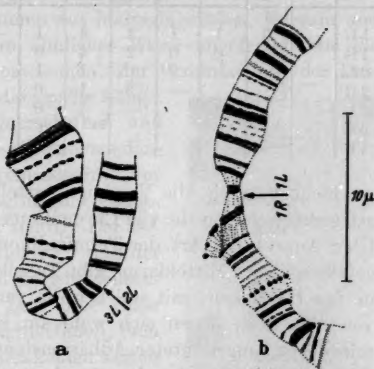


Abb. 25 a u. b. Terminale Vereinigung von Mitteldarm-Chromosomen. a Besonders enge Bindung zwischen 3L und 2L; b Vereinigung beider Enden des 1. Chromosoms. KE-OEM; 2660mal.

d) Terminale Vereinigung der Chromosomen.

Bei *C. thummi* erscheinen in einem relativ geringen Teil der Speicheldrüsenkerne die Chromosomen in bestimmter Weise terminal verbunden (BAUER 1935). Es handelt sich nach BAUER um eine sekundäre Vereinigung unspezifischer Natur, deren Zustandekommen lagebedingt, also vom Zerfall abhängig ist. HINTON und ATWOOD (1941) stellen nach Untersuchungen an *Drosophila* spezifische Verschiedenheiten in den Häufigkeiten fest, mit welchen die einzelnen Chromosomenenden assoziiert sind. WARTERS und GRIFFEN (1950) führen die Terminalbindungen auf die Ähnlichkeit der Telomeren („all telomeres are similar“) und auf die zwischen ihnen wirksamen Anziehungskräfte zurück.

Bei *C. tentans* treten terminale Chromosomenbindungen in den Speicheldrüsen nur selten — in weniger als 10% der Kerne — auf; in den Malpighigefäßen sind sie häufiger, und am zahlreichsten in den Mitteldarm-Chromosomen. Die terminalen Bindungen zwischen den Mitteldarm-Chromosomen sind oft so fest, daß auch starke Zerrung sie nicht lösen kann; eher zerreißen die Chromosomen selbst. Ohne Kenntnis des Querscheibenmusters ist es hier manchmal

Tabelle 3a. Kerne mit terminalen Verbindungen der Chromosomen im Mitteldarm eines und in den Malpighigefäßen eines anderen Individuums.

Anzahl der Bindungen	Anzahl der Kerne	
	Mitteldarm	Malpighigefäße
0	10	37
1	15	20
2	4	2
3	1	0

Tabelle 3b. Häufigkeit der Bindungsarten in den in Tabelle 3a aufgeführten Kernen.
1 L, 1 R . . . 4 R die einzelnen Chromosomenenden.

	Mitteldarm							Malpighigefäße						
	1 L	1 R	2 L	2 R	3 L	3 R	4 R	1 L	1 R	2 L	2 R	3 L	3 R	4 R
1 L	—	2	1	1	4	4	1	—	1	0	0	4	1	0
1 R	—	—	0	0	2	4	0	—	—	0	0	4	3	0
2 L			—	0	0	1	1			—	—	2	1	0
2 R				—	3	1	0				—	1	0	0
3 L					—	1	0					—	6	0
3 R						—	0						—	1
4 R							—							—

gar nicht möglich, die Vereinigungsstellen aufzufinden (Abb. 25), und gelegentlich bilden die vier Chromosomen ein durchgehendes „Spirem“. Über Anzahl und Art der Terminalbindungen in Kernen der Malpighigefäße und des Mitteldarms gibt Tabelle 3 Auskunft. Die Unterschiede in der Häufigkeit, mit welcher die verschiedenen Chromosomenenden vereinigt sind, lassen sich wohl am besten als Folge spezifisch verschiedener, ungerichteter Adhäsionstendenzen der Chromosomenenden deuten. Die Ursache der gewebespezifischen Unterschiede im Vorkommen der Terminalbindungen sind unbekannt.

3. Das Querscheibenmuster.

Die Riesenchromosomen der Mitteldarm-, Malpighigefäß- und Rectumkerne sind bei ungefähr gleicher Länge bedeutend schmäler als Speicheldrüsen-Chromosomen, wie oben im einzelnen dargelegt wurde. Daraus ergibt sich bei Homologisierungsversuchen eine psychologische Schwierigkeit, weil man geneigt ist, einem in einer Dimension verschmälerten Gebilde auch proportional verkleinerte andere Dimensionen zuzuschreiben. Diese Schwierigkeit wird noch verstärkt, weil die Malpighigefäß-, Rectum- und Mitteldarm-Chromosomen in den Quetschpräparaten nur selten unverzerrt und in ihrer ganzen Länge freiliegen und daher relative Länge und Lage der zu homologisierenden Chromosomenabschnitte meist nicht festgestellt werden können. Hinzu kommen der verwirrende Habitus der Malpighigefäß-Chromosomen, die häufige Auffaserung der Rectum-Chromosomen, und bei den Mitteldarm-Chromosomen der Mangel an charakteristischen Konturen und die Häufigkeit terminaler Bindungen. Einfache Orientierungsmöglichkeiten bieten also zunächst nur die Nukleolen und die Inversionen. Besonders leicht erkennbar ist eine nahe dem rechten Ende des 3. Chromosoms in der Region 14 gelegene kurze Inversion, die nur etwa 15 Querscheiben, darunter 6 kräftiger hervortretende in charakteristischer Anordnung umfaßt. Die Strecke bleibt im heterozygoten Zustand regelmäßig ungepaart (Abb. 26 und 39). Von diesem eindeutig in allen 4 Gewebeat

identifizierbaren Bereich ausgehend wurde der Vergleich des Querscheibenmusters auf das gesamte 3. Chromosom ausgedehnt und das Resultat in unabhängig voneinander aufgenommenen Chromosomenkarten für die verglichenen Organe niedergelegt.

Die Karten der 3. Chromosomen aus Malpighigefäßen, Rectum und Mitteldarm (Tafel 2) wurden in ähnlicher Weise angefertigt wie die Karten der Speicheldrüsen-Chromosomen. Zur Vereinfachung der Darstellung erhielten alle 4 Karten die gleiche Länge. Die relativen Abstände der Querscheiben und Einschnürungen entsprechen im allgemeinen denjenigen der Speicheldrüsen-Chromosomen. Nur an zwei Stellen war eine geringfügige Veränderung der Scheibenabstände notwendig: Der Bereich der Einschnürung in der Region 7 und der rechte Endabschnitt sind in den Speicheldrüsen-Chromosomen relativ kürzer. Das linke Ende des 3. Chromosoms in den Malpighigefäßen, dem Rectum und dem Mitteldarm bildet keinen weiten Fächer wie in den Speicheldrüsen; es ist übereinstimmend durch ein kurzes, schmales, an eine subterminale Einschnürung anschließendes Segment gekennzeichnet. Auch am rechten Ende des Chromosoms fehlt in den übrigen Geweben die für die Speicheldrüsen charakteristische fächerartige Aufspreizung; an ihrer Stelle findet sich eine subterminale Erweiterung des Chromosomen-Querschnitts. Im Abschnitt 6A des 3. Mitteldarm-Chromosoms erkennt man eine Einschnürung, welche in anderen Geweben bisher nicht beobachtet wurde; möglicherweise handelt es sich um eine Strukturmodifikation besonderer Art (vgl. Abschn. F).

Der Habitus der Chromosomen, insbesondere die Mäanderstruktur der Malpighigefäß-Chromosomen, konnte in den Karten nicht dargestellt werden. Diese geben vielmehr die Konturen mäßig gedehnter Chromosomen wieder, so wie sie in Quetschpräparaten normalerweise vorliegen. Vergleiche des Volumens der homologen Chromosomen verschiedenerer Gewebe, etwa zur Abschätzung des Polytäniegrades, würden ohnehin auf der Basis zweidimensionaler Darstellungen nicht möglich sein, da die Malpighigefäß-, Rectum- und Mitteldarm-Chromosomen nicht zylindrisch gebaut sind. Dieser Umstand erweist sich indessen als Vorteil bei der Querscheibenanalyse. Die flache, bandartige Form der Mitteldarm- und (im Quetschpräparat) auch der Malpighigefäß-Chromosomen erlaubt eine beträchtliche Überdehnung, wodurch zahlreiche feine Querscheiben



Abb. 26. Eine kurze Inversion im rechten Endabschnitt des 3. Chromosoms (Speicheldrüsen). K.E. nachfixiert in Bouin-Allen; Feulgen, 1000mal.

besser erkennbar werden (vgl. S. 146). Bei Rectum-Chromosomen wird dieser Vorteil durch das oben erwähnte häufige Vorkommen einer allgemeinen Strukturauflockerung wieder aufgewogen; demgemäß ist die Anzahl der im 3. Rectum-Chromosom bisher festgestellten Querscheiben (etwa 380) nicht höher als im 3. Speicheldrüsen-Chromosom (vgl. S. 146). Dagegen wurden im 3. Malpighigefäß-Chromosom etwa 440 und im 3. Mitteldarm-Chromosom etwa 480 Querscheiben festgestellt. Rechnet man diesen Maximalwert auf die Gesamtlänge aller 4 Chromosomen um, so erhält man für das Genom von *Chironomus tentans* insgesamt etwa 1900 Querscheiben, also nahezu 500 mehr als bei der Auszählung der Speicheldrüsenkarten.

Bei der unverhältnismäßig genauer untersuchten *Drosophila melanogaster* wurden bisher 5149 Scheiben in den Speicheldrüsen-Chromosomen gezählt (WHITE 1945, nach Daten von C. B. BRIDGES, P. N. BRIDGES und SLIZYNSKI). Die Karten von *D. virilis* enthalten etwa 2000 Querscheiben (PATTERSON, STONE und GRIFFEN 1940).

Ein Vergleich der Karten des 3. Chromosoms untereinander zeigt nun unmittelbar, daß die relative Lage und Ausprägung der überwiegenden Anzahl der Querscheiben in allen 4 Gewebearten vollständig übereinstimmen; nicht nur die Grenzen der Regionen, sondern auch die der Unterabschnitte lassen sich, bis auf wenige durch Fragezeichen gekennzeichnete Ausnahmen, eindeutig homologisieren; darüber hinaus ist innerhalb der meisten Unterabschnitte Scheibe für Scheibe homologisierbar. Dies ist besonders bemerkenswert im Hinblick auf die Vielzahl von gewebespezifischen Strukturmodifikationen, die in allen Chromosomenabschnitten auftreten können und dann das Querscheibenmuster lokal bis zur Unkenntlichkeit verwischen (s. Abschn. 4). Einige dieser Modifikationen treten in bestimmten Geweben ebenso konstant auf wie die Balbiani-Ringe des 4. Chromosoms in den Speicheldrüsen und mußten daher in den Karten mit dargestellt werden, so z. B. der „puff“ im Abschnitt 7C in der Karte des 3. Rectum-Chromosoms. Daß das 3. Rectum-Chromosom auch in mehreren anderen Abschnitten der Karte einzelne Besonderheiten zeigt (z. B. in 10C und 12B), liegt zum Teil sicher daran, daß es verhältnismäßig selten gelingt, von Rectum-Chromosomen klare Präparate zu erhalten; ein Teil dieser Diskrepanzen könnte also wahrscheinlich durch Untersuchung umfangreicheren Materials ausgeglichen werden, was aber im Hinblick auf die Fülle von übereinstimmenden Strukturelementen unnötig erscheint.

Für das 1., 2. und 4. Chromosom wurde die Homologisierbarkeit des Querscheibenmusters durch Stichproben sichergestellt; Beispiele dafür zeigen die Abb. 33, 40 und 41. Das 4. Chromosom, das an sich seiner Kleinheit und leichten Erkennbarkeit wegen für vergleichende Untersuchungen am besten geeignet erscheint, bietet allerdings erhebliche Schwierigkeiten: So werden durch die — in den anderen Gewebearten

fehlenden — Balbiani-Ringe in der Speicheldrüse relativ große Teile des Querscheibenmusters undeutlich gemacht. Vor allem aber besitzen die kurzen Chromosomen, besonders in Mitteldarm- und Malpighigefäß-Kernen einen geringeren Durchmesser und sind stärker spiralisiert sowie dunkler gefärbt als die übrigen Chromosomen; es scheinen auch starke Unterschiede in der Färbung relativ zahlreicher Querscheiben aufzutreten. Eine Klärung dieser Verhältnisse ist vielleicht durch Analyse induzierter

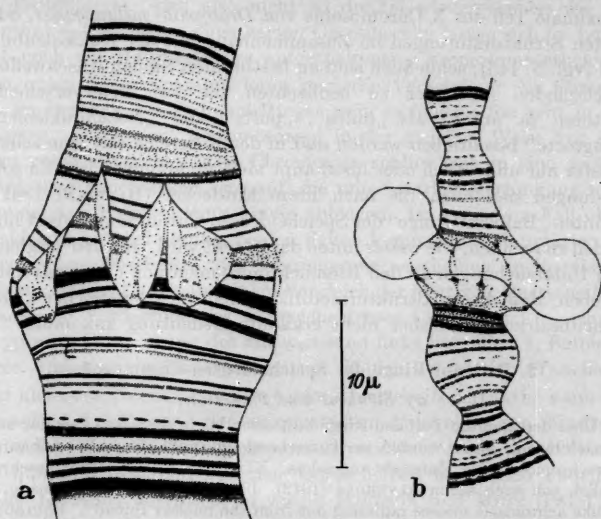


Abb. 27 a u. b. Nukleolenbildungszone des 3. Chromosoms (Region 9 und 10). a Speicheldrüse, Kontur des Nukleolus nicht eingezeichnet (KE-Euparal); b Rectum (KE-OEM); 2660mal.

Translokationen des 4. Chromosoms zu erreichen. Für einen Ausfall oder eine Umordnung auch kürzester Chromosomenabschnitte im Laufe der Organdifferenzierung gibt es jedenfalls auch hier keine Anhaltspunkte.

In allen 4 untersuchten Geweben werden die Nukleolen an genau den gleichen Chromosomenstellen gebildet; während aber in den Speicheldrüsen-Chromosomen vom Nukleolenbildungsort aus in beiden Richtungen eine Strukturauflockerung weit auf die angrenzenden Abschnitte übergreift (vgl. Abb. 27 a) — der aufgespaltene Abschnitt hat etwa die Ausdehnung einer ganzen Region auf der Karte —, sind die entsprechenden Abschnitte in den Kernen der anderen Gewebe nur leicht oder gar nicht verändert (Abb. 27 b). Ebenso wie in den Speicheldrüsen-Chromosomen erscheint die eigentliche Bildungsstelle häufig diffus angefärbt und vakuolisiert.

F. Gewebe- und funktionsspezifische Strukturmodifikationen.

1. Allgemeines.

Es ist schon lange bekannt, daß die Speicheldrüsen-Chromosomen der Dipteren nicht auf ihrer ganzen Länge einen gleichmäßig klaren Querscheibenbau besitzen. So können in die Chromosomen Abschnitte heterochromatischer Natur eingeschaltet sein, mit einem von den euchromatischen Bereichen stark abweichenden Aussehen, wie etwa der proximale Teil des X-Chromosoms von *Drosophila melanogaster*, oder es treten Strukturstörungen im Zusammenhang mit der Nukleolenbildung auf (vgl. S. 145); schließlich sind an bestimmten Stellen Anschwellungen wechselnden Ausmaßes zu beobachten, die von den verschiedenen Autoren (s. unten) als „bulbs“, „puffs“ oder „Nebennukleolen-Bildungsorte“ beschrieben werden und in deren Bereich das Querscheibenmuster nur undeutlich oder überhaupt nicht zu erkennen ist. Zu solchen Bildungen sind auch die nach ihrem Entdecker (BALBIANI 1881) benannten „Balbiani-Ringe“ der Speicheldrüsen-Chromosomen der Chironomiden zu rechnen, wie weiter unten dargestellt wird. Bei den verglichenen Untersuchungen an den Riesenchromosomen von *C. tentans* hat sich ergeben, daß diesen Strukturmodifikationen euchromatischer Chromosomenbezirke eine bisher nicht erkannte Bedeutung zukommt.

2. Balbiani-Ringe der Speicheldrüsen-Chromosomen.

a) Struktur und Funktion.

Über den Bau der Balbiani-Ringe bestanden bis in die letzte Zeit nur unklare Vorstellungen. Meist wurden sie kurzerhand als Nukleolen, also Anhäufungen extrachromosomalen Materials angesehen. KING und BEAMS (1934) beschreiben, ähnlich wie auch schon ALVERDES (1912), die Balbiani-Ringe als „made up of rodlike achromatic masses radiating out from the nuclear thread“. POULSON und METZ (1938) meinen auf Grund ihrer Beobachtungen an unbestimmten *Chironomus*-Arten: „A chromatic network, resembling a system of rootlets runs out from the chromatic bands into the clear nucleolar substance“. BAUER und CASPEESON (1949) sowie BAUER und BEERMANN (1952) haben inzwischen für den großen Balbiani-Ring am 4. Chromosom von *C. tentans* sichergestellt, daß diese „rootlets“ feine und feinste Fibrillenteilbündel mit Querscheibenstruktur darstellen, nicht etwa seitliche Fortsätze der Querscheiben.

Am 4. Speicheldrüsen-Chromosom von *C. tentans* können 3 Balbiani-Ringe auftreten (vgl. auch BAUER und BEERMANN 1952). Bei unter natürlichen Verhältnissen aufgewachsenen Larven befindet sich regelmäßig ein großer Balbiani-Ring ungefähr auf halber Länge des Chromosoms und ein wesentlich kleinerer weiter rechts, fast terminal (vgl. Tafel 1). Ein weiterer im linken Drittel des Chromosoms gelegener Balbiani-Ring ist bei Freilandtieren meist nicht ausgebildet; an seiner Stelle liegt eine stark variable Auflockerungszone (s. weiter unten).

Die Balbiani-Ringe sind äußerlich vor allem durch ihren regelmäßigen, rotationssymmetrischen Aufbau ausgezeichnet. In typischer

Ausprägung gleichen sie nahezu kugelförmigen Rotationsellipsoiden, deren Hauptachse das Chromosom bildet; um die beiderseits anschließenden Abschnitte des Chromosoms sind die Balbiani-Ringe kegelförmig ausgespart. Die Oberfläche besitzt weder im Leben noch im fixierten Präparat eine scharf abgesetzte Phasengrenze, sie erscheint leicht wellig bzw. höckerig konturiert. Das Innere des Balbiani-Ringes gleicht in seiner Tönung bei Lebendbeobachtung (Phasenkontrast) etwa dem Protoplasma, wird also nicht so dunkel wiedergegeben wie die Hauptnukleolen. Neben einer zarten Granulierung lassen sich im Leben meist noch die Hauptäste des aufgespaltenen Chromosoms erkennen.

In guten KE-Präparaten kann man die Verästelung des Chromosoms im Bereiche des Balbiani-Ringes weit verfolgen. Sie geht in ungepaarten, „haploiden“ Chromosomen in der gleichen Weise vor sich wie in völlig gepaarten. Das Chromosom spaltet sich in eine geringe Anzahl etwa gleichdicker Äste auf, die unter starker Verjüngung nach außen in den Balbiani-Ring hinein abbiegen. Im typischen Fall überschneiden sich dabei die von beiden Seiten kommenden Hauptäste; die angrenzenden Abschnitte des Chromosoms erscheinen ineinandergeschoben. Das geht auch aus einem Vergleich der relativen Querscheibenabstände im Vorderende des 4. Speicheldrüsen-Chromosoms — einmal bei typischer Ausprägung des am weitesten links liegenden 1. Balbiani-Ringes und zum anderen bei seinem Fehlen — hervor (Tabelle 4).

In kleineren Kernen mit unscharfer Querscheibenstruktur kann die gegenseitige Annäherung der angrenzenden Abschnitte den Eindruck hervorrufen, als trete das Chromosom unverändert durch den Balbiani-Ring hindurch, während von den Querscheiben her dünne Fäden in radialer Richtung austreten, so wie es POULSON und METZ (1938) beschrieben haben. Normalerweise besitzen wenigstens die Hauptäste eine deutliche Querscheibenstruktur. Der Abstand der Querscheiben ist an der Innenseite der Äste größer als außen und nimmt mit deren Verjüngung zu. Die Aufteilung in Fibrillen-Teilbündel verläuft nicht sehr regelmäßig; die Hauptäste teilen sich auf ungefähr gleicher Höhe in eine jeweils geringe Anzahl feinerer, wiederum auseinanderbiegender Stränge und dieser Vorgang wiederholt sich mehrfach bis zur Peripherie

Tabelle 4. Relative Abstände der Scheiben 1C1, 2C1 und 4A1 vom linken Ende des 4. Speicheldrüsen-Chromosoms zweier Individuen (a und b).

(Relative Abstände in Prozent der Gesamtlänge; 3facher mittlerer Fehler.
In beiden Fällen $n = 10$.)

	1C1	2C1	4A1
1. Balbiani-Ring			
a) nicht ausgebildet	10,7 \pm 1,0	27,1 \pm 2,4	48,1 \pm 2,2
b) voll ausgebildet	10,2 \pm 0,8	21,8 \pm 1,2	46,6 \pm 1,8

des Balbiani-Ringes hin, wobei die feinsten Verzweigungen lichtoptisch nicht mehr auflösbar sind. Die Verzweigung ist von zunehmender Dehnung der Längselemente begleitet, wie sich aus den Abstandsverhältnissen der Querscheiben ergibt. Dabei wird eine große Anzahl feinsten

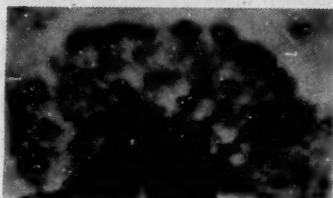


Abb. 28. Zweiter Balbiani-Ring des 4. Speicheldrüsen-Chromosoms. Anhäufung dunkler gefärbten (Feulgen-negativen) Materials in der Peripherie. KE-Euparal; Phasenkontrast, 1500mal.

Scheiben erkennbar. Gelegentlich kommt auf kurzen Strecken dichotome Aufspaltung vor; sie bildet aber nicht die Regel. Die Fibrillen bzw. Fibrillenbündel sind im Balbiani-Ring in eine Feulgen-negative Substanz eingebettet, deren Konzentration im Bereich der feinsten peripheren Verästelungen — nach subjektiver Beobachtung am karmingefärbten Präparat — am höchsten zu sein scheint (Abb. 28).

Die Balbiani-Ringe sind Stellen besonderer Stoffwechseltätigkeit, wie sich experimentell leicht demonstrieren läßt: Bringt man ausgewachsene Larven, die mindestens 1 Std in der Kälte bei etwa 5°C

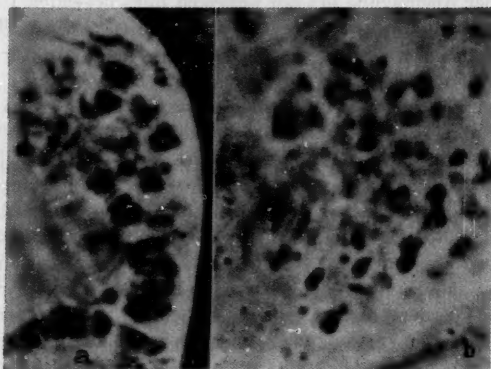


Abb. 29 a u. b. Tröpfchenbildung an den Balbiani-Ringen bei Wiedererwärmung der Larven nach Kältevorbehandlung (vgl. Text). In a haben sich nur am 1. Balbiani-Ring Tröpfchen gebildet. Lebend, in Paraffinöl; Phasenkontrast, 1500mal.

gehalten wurden, in Wasser von Zimmertemperatur zurück, so setzt — frühestens nach etwa 1½ Std — an den Balbiani-Ringen der Speicheldrüsen-Chromosomen eine im Leben (Phasenkontrast) deutlich erkennbare Ansammlung von Material ein (Abb. 29). Die Peripherie der Balbiani-Ringe erscheint zu Beginn der Reaktion von zahlreichen dunklen

Tröpfchen erfüllt, die später zu größeren Ballen zusammenfließen. Diese Tröpfchen heben sich durch die Ausbildung einer Phasengrenze deutlich

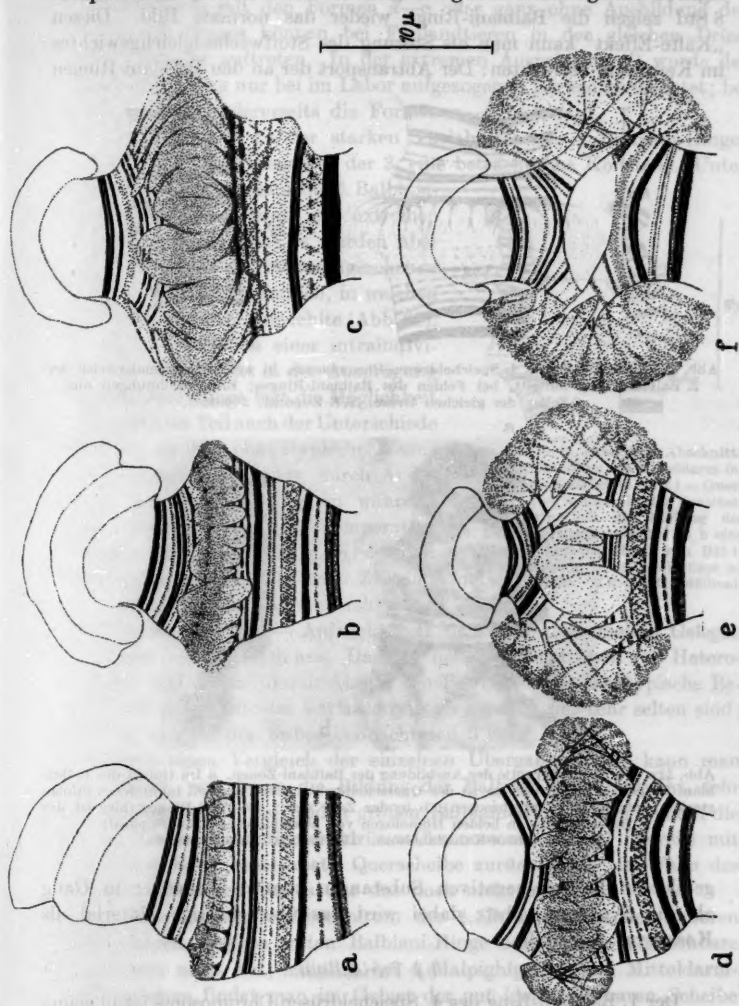


Abb. 30 a—f. Wechselnde Ausprägung des 4. Balblaut-Ringes des 4. Speicheldrüsen-Chironomus (vgl. Text). KE-Euparal; 27,5mal.

von der oben erwähnten Fibrillen-Hüllensubstanz ab. Die einzelnen Stadien der Reaktion müssen an jeweils zu dem betreffenden Zeitpunkt

frisch präparierten Speicheldrüsen verfolgt werden, können aber gelegentlich auch unter dem Deckglas weiterlaufen. Spätestens nach 8 Std zeigen die Balbiani-Ringe wieder das normale Bild. Diesen „Kälte-Effekt“ kann man als Störung des Stoffwechselgleichgewichtes im Kernraum betrachten: Der Abtransport der an den Balbiani-Ringen



Abb. 31. Der Bereich des 4. Speicheldrüsen-Chromosoms, in welchem normalerweise der 2. Balbiani-Ring auftritt, bei Fehlen des Balbiani-Ringes; Einzelzeichnungen aus 2 Zellen der gleichen Drüse. KE-Euparal; 2660mal.

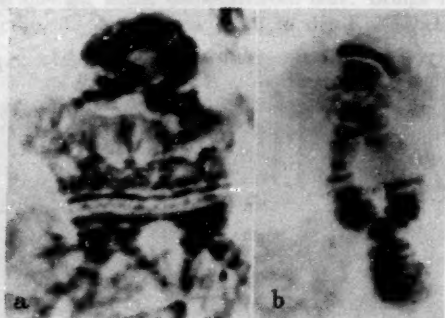


Abb. 32a u. b. Heterozygotie der Ausbildung der Balbiani-Zonen. a Im Gebiet des 1. Balbiani-Ringes (in einem Partner ist der Querscheibenbau kaum gestört, im anderen infolge starker Aufspreizung unterbrochen); b in der Zone des 2. Balbiani-Ringes (hier ist der 1. Balbiani-Ring in beiden Homologen voll ausgebildet). a KE-Euparal; b Toluidinblau-Kanadabalsam. 1500mal; a Phasenkontrast.

gebildeten Feulgen-negativen Substanzen kommt langsamer in Gang als die Synthese selbst; dabei wird das überschüssige Material als Koazervat ausgefällt.

b) Variabilität.

Der 1. Balbiani-Ring des 4. Speicheldrüsen-Chromosoms ist in seiner Ausprägung außerordentlich variabel. In der Abb. 30 ist eine Reihe von Varianten zusammengestellt; dabei ist nur f als typischer Balbiani-Ring

anzusehen: Gegenüber e unterscheidet er sich durch progressive Aufspaltung des Chromosoms und die Überschneidung der Hauptäste. Chromosomen mit den Formen a—e oder ganz ohne Ausbildung des 1. Balbiani-Ringes können bei Freilandtieren in der gleichen Drüse nebeneinander auftreten. In der extremen Ausprägung (f) wurde der 1. Balbiani-Ring nur bei im Labor aufgezogenen Larven beobachtet; bei diesen treten andererseits die Formen a—d nicht auf.

Im Gegensatz zu der starken Variabilität des 1. Balbiani-Ringes zeigen der 2. und besonders der 3. eine beträchtliche Konstanz. Unter Laborbedingungen kann der 2. Balbiani-Ring gelegentlich nicht zur extremen Ausbildung gelangen; es wurden aber unter weit mehr als 100 durchgesehenen Präparaten nur 2 gefunden, in welchen er in einigen Zellen ganz fehlte (Abb. 31).

Das Vorkommen einer intraindividuellen Variabilität in der Ausprägung der Balbiani-Ringe legt die Möglichkeit nahe, daß ein Teil auch der Unterschiede von Tier zu Tier phänotypischer Natur ist. Versuche allerdings, durch Änderung der Zuchtbedingungen während der Larvenentwicklung (Temperatur, Futter) eine Angleichung an den bei Freilandtieren vorgefundenen Zustand zu erzielen, schlugen bisher fehl. Der umgekehrte Versuch — Aufzucht von im Freien gesammelten Gelegen im Labor — steht noch aus. Dagegen liefert das Auftreten von Heterozygoten (vgl. weiter unten, Abs. 3) den Beweis für die genotypische Bedingtheit eines Teils der Varianten, wenn sie auch nur sehr selten sind; Abb. 32 zeigt 2 der bisher beobachteten 3 Fälle.

Durch einen Vergleich der einzelnen Übergangsformen kann man die Stellen, von denen die Bildung der Balbiani-Ringe ausgeht, sehr genau eingrenzen. Die beiden großen Balbiani-Ringe lassen sich auf die in der Karte des 4. Speicheldrüsen-Chromosoms (Tafel 1) jeweils mit BR 1 und BR 2 bezeichnete Querscheibe zurückführen; im Falle des kleinen 3. Balbiani-Ringes war das noch nicht möglich.

In den homologen Abschnitten der 4. Chromosomen der anderen untersuchten Gewebe treten Balbiani-Ringe oder ihnen vergleichbare Strukturen nicht auf; lediglich bei 4. Malpighigefäß- und Mitteldarm-Chromosomen findet man im Gebiet der gut identifizierbaren Scheibe „BR 1“ eine leichte Anschwellung (Abb. 33). Diese Tatsache läßt sich nicht einfach auf den geringeren Polytäniegrad der Malpighigefäß-,



Abb. 33a u. b. Homologe Abschnitte des 4. Chromosoms aus Mitteldarm (a) und Malpighigefäßen (b). BR 1 — Querscheibe, von welcher in der Speicheldrüse vermutlich die Bildung des 1. Balbiani-Ringes ausgeht. In b eine Auflockerungszone distal von BR 1, welche oft auch in Speicheldrüsen zu beobachten ist. KE-OEM; 2660mal.

Rectum- und Mitteldarm-Chromosomen zurückführen, da sich ja Balbiani-Ringe in den Speicheldrüsen schon an 4. Chromosomen sehr junger Larven finden. Auch mit der Annahme einer stärkeren Torsion der Einzelfibrillen, etwa im Zusammenhang mit dem gedrunghenen Bau der Speicheldrüsen-Chromosomen (vgl. hierzu die Ausführungen im allgemeinen Teil) ist das ausschließliche Auftreten dieser Balbiani-Ringe in der Speicheldrüse nicht erklärt, denn an bestimmten anderen Stellen

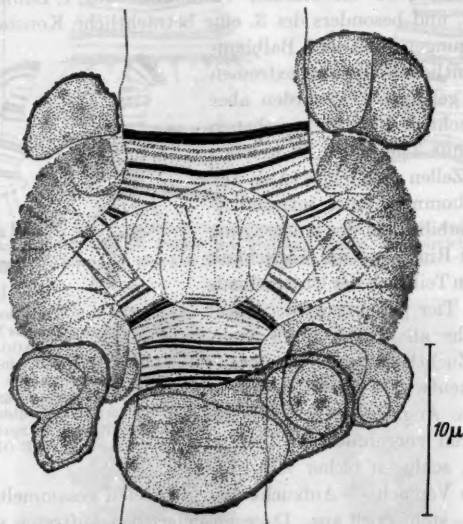


Abb. 34. Nukleolenbildungsort des 3. Speicheldrüsen-Chromosoms in der Ausprägung eines Balbiani-Ringes. Das Nukleolarmaterial liegt in Form unregelmäßiger Ballen der Oberfläche des Balbiani-Ringes an. KE-Euparal; 2000mal.

im Chromosomenbestand können auch Malpighigefäß-Chromosomen den Balbiani-Ringen gleichartige Auflockerungszonen bilden (Abb. 40b). Demnach sind die Balbiani-Ringe des 4. Speicheldrüsen-Chromosoms speicheldrüsenpezifische Strukturmodifikationen bestimmter Chromosomenstellen, die auf einzelne Querscheiben zurückgeführt werden können.

Gelegentlich nehmen auch die Bildungsstellen der Nukleolen Balbiani-Ring-Struktur an; dies wurde bisher allerdings nur einmal mit Sicherheit festgestellt. Bei dem betreffenden Tier war in allen Speicheldrüsenkernen die Nukleolenbildungszone des 3. Chromosoms als Balbiani-Ring ausgeprägt (Abb. 34); die Nukleolarsubstanz ist deutlich gegen die Peripherie des Ringes abgegrenzt.

3. Modifikationen anderer Art.

a) Vorkommen, Struktur und Funktion.

Die Balbiani-Ringe stellen nur einen Sonderfall der offenbar im Zusammenhang mit erhöhter funktioneller Aktivität (vgl. hierzu die Ausführungen im allgemeinen Teil) auftretenden Veränderungen in der Struktur einzelner Chromosomenstellen dar. Der gegenüber anderen Chromosomenabschnitten erhöhte Stoffumsatz solcher Stellen wird, wie erwähnt, an der Abscheidung von thymonukleinsäurefreiem Material nach Kältevorbehandlung deutlich. An anderen Stellen der Chromosomen beobachtet man nun gelegentlich auch ohne Vorbehandlung das Auftreten von achromatischen Tröpfchen.

Sie wurden erstmalig von FAUSSEK (1913) als „argentophile“ Körner beschrieben. KING und BEAMS (1934) fanden ebenfalls kleinere nukleolenartige Gebilde zwischen den Querscheiben der Speicheldrüsen-Chromosomen von *Chironomus*. BAUER (1935) erkannte, daß diese „Nebennukleolen“ an konstanten Orten der Chromosomen entstehen, die im fixierten Präparat vakuolisiert und angeschwollen erscheinen. KAUFMANN (1938) erwähnt ähnliche Bildungen bei *D. melanogaster*. Auch in den Speicheldrüsen-Chromosomen von *Sciara* treten „achromatic droplets“ auf (METZ und LAWRENCE 1937), die bei erheblicher Variabilität in Anzahl und Größe immer an den gleichen Stellen gebildet werden. POULSON und METZ (1938) bezeichnen besonders auffällige Nebennukleolen-Bildungsorte dieser Art als „bulbs“; ihre Lage (in den Speicheldrüsen-Chromosomen) ist konstant, ihre Ausprägung variabel. Eingehender haben die gleichen Autoren, ebenfalls an *Sciara*, vor allem eine andere Gruppe von Strukturmodifikationen auf ihre Struktur und Variabilität hin untersucht, die sog. „puffs“; dies sind nach der Schilderung von POULSON und METZ größere, bis zu 30 Querscheiben umfassende, stark angeschwollene Abschnitte der Speicheldrüsen-Chromosomen, welche an Stelle des normalen Scheibenbaues ein diffus-granuläres Aussehen angenommen haben und gleichmäßig von achromatischem Material durchsetzt sind. Es wird von den genannten Autoren nicht ausdrücklich hervorgehoben, geht aber aus einem Vergleich der abgebildeten morphologischen Übergangsformen ein und desselben „puffs“ ohne weiteres hervor, daß diese Strukturmodifikationen auf engbegrenzte, etwa einer Querscheibe entsprechende Bezirke zurückgehen. Abbildungen und Beschreibung sprechen somit für eine gewisse Analogie dieser Gebilde mit Balbiani-Ringen, wenn auch in diesem Fall die betroffenen Chromosomenabschnitte nicht verkürzt erscheinen.

In den Speicheldrüsen-Chromosomen von *C. tentans* sind „Nebennukleolen“ nicht häufig; erst nach Kältevorbehandlung treten sie in zahlreichen Chromosomenabschnitten auf. Bei Lebendbeobachtung (Phasenkontrast) erscheinen sie als dunkle Tröpfchen, die in einer Schicht den ganzen Querschnitt des Chromosoms durchsetzen, wie schon FAUSSEK festgestellt hatte (Abb. 35). Im Karminpräparat sind sie nur blaß gefärbt — sie enthalten keine Thymonukleinsäure — und haben im Gegensatz zu den Nukleolen, mit welchen sie auch nicht verschmelzen, ein glasig-klares, homogenes Aussehen. Die auffälligste, derartige achromatische Material „produzierende“ Stelle (in Speicheldrüsen) liegt im Abschnitt 17B des 1. Chromosoms (Abb. 35). Im

fixierten Präparat (Abb. 36) erscheint das Chromosom hier angeschwollen, diffus gefärbt und in einzelne Fibrillenstränge aufgesplittet. Der veränderte Bereich kann etwa einen Unterabschnitt der Karte umfassen. Durch einen Vergleich mit weniger oder nicht modifiziert erscheinenden homologen Chromosomenabschnitten läßt sich als Ausgangspunkt der Störung die in der Abb. 36 durch einige stärker gefärbte Granula und im übrigen verwaschen angedeutete Querscheibe lokalisieren. Sie ist auch im Normalzustand meist von einem diffus gefärbten Hof umgeben, ähnlich wie die „Balbiani“-Scheiben (s. S. 175). Querscheiben dieser Art, an denen meist nachweisbar „Nebennukleolen“ ge-

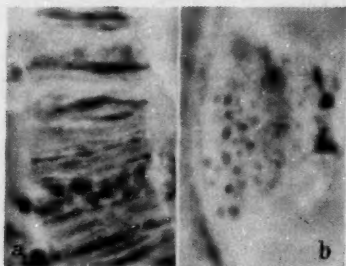


Abb. 35a u. b. Nebennukleolen in lebenden Speicheldrüsen-Chromosomen. a Tropfenbildung im Unterabschnitt 17B des 1. Chromosoms; b optischer Querschnitt einer anderen Nebennukleolenzone. Lebend. in Paraffinöl; Phasenkontrast, 1500mal.

bildet werden, finden sich verstreut in allen Speicheldrüsen-Chromosomen; bei Toluidinblaufärbung zeigen sie in günstigen Fällen wie das Cytoplasma und die Nukleolen eine rotviolette Metachromasie, während alle anderen Querscheiben rein blau erscheinen. Differentielle Färbung einzelner Querscheiben erhielten auch BRACHET (1944) und SCHULTZ (1941).

In den Chromosomen der übrigen untersuchten Gewebe lassen sich aus technischen Gründen Nebennukleolen nur in Aus-

nahmefällen darstellen; jedoch finden sich hier ebenfalls Anschwellungen und Querscheiben der beschriebenen Art (vgl. Abs. b, weiter unten). In den Speicheldrüsen-Chromosomen andererseits gibt es auch eine Gruppe von Strukturmodifikationen, die sog. „diffusen“ Zonen und Querscheiben, an welchen sich keine Tröpfchen bilden. Die modifizierten Stellen erscheinen hier nur verquollen und diffus gefärbt, wobei der Querschnitt des Chromosoms etwas erweitert sein kann (z. B. Abb. 39 b). Auch hier ist die erwähnte Toluidinblau-Metachromasie zu finden. Besonders in den Rectum- und Malpighigefäß-Chromosomen bildet dieser Modifikationstyp den Hauptteil der variablen Strukturen; hier kann die Anschwellung auch relativ größerer Ausmaße annehmen (Abb. 43).

b) Variabilität.

Über die Variabilität der „puffs“ in den Speicheldrüsen-Chromosomen von *Sciara* heißt es bei POULSON und METZ (1938): „Some of them are small and slight in extent, others are large and prominent. . . . These regions “puff” simultaneously. The degree to which the regions

are puffed is the same throughout the nuclei of an individual. Puffing appears to be dependent upon physiological or external factors rather than upon genetic constitution." Diese Angaben lassen sich für die in

Speicheldrüsen von *C. tentans* beobachteten Strukturmodifikationen nur zum Teil bestätigen: Ebenso wie die Balbiani-Ringe sind auch die übrigen Auflockerungszonen und Anschwellungen nicht alle gleich stark entwickelt, also individualspezifisch in bestimmter Weise abgestuft; während indessen einerseits die Ausprägung aller Strukturmodifikationen simultan und im gleichen Sinne variieren kann — etwa unter dem Einfluß äußerer Bedingungen —, wurden andererseits auch individuelle Unterschiede beobachtet, die zeigen, daß die Strukturveränderungen

der einzelnen Chromosomenstellen grundsätzlich unabhängig voneinander auftreten. So fand sich z. B. bei einer Larve aus Plöner Material nach Kältevorbehandlung ein außergewöhnlich großer „Nebennukleolus“ an einer Stelle, wo bei 10 anderen entsprechend vorbehandelten Tieren gleicher Herkunft keine Strukturmodifikationen oder Nebennukleolen beobachtet wurden. Unterschieden dieser Art dürfte eine verschiedene genetische Konstitution zugrunde liegen. Heterozygot verschiedene Ausprägung ein- und derselben Stelle kommt nur sehr selten vor: Den einzigen neben den ausnahmsweise auftretenden heterozygoten Balbiani-Ringen (vgl. S. 175) beobachteten Fall zeigt Abb. 37; einen weiteren haben HSU und LIU (1946) beschrieben; bei *Sciara* konnten POULSON und METZ keine heterozygoten „puffs“ auffinden.

Auch während der Individualentwicklung treten spezifische Unterschiede in der Ausprägung einzelner Chromosomenstellen auf: Bei einer vergleichenden Untersuchung der Speicheldrüsen-Chromosomen von insgesamt 20 Larven und 20 Vorpuppen aus 3 Inzuchtstämmen wurde festgestellt, daß einige Strukturmodifikationen jeweils nur bei

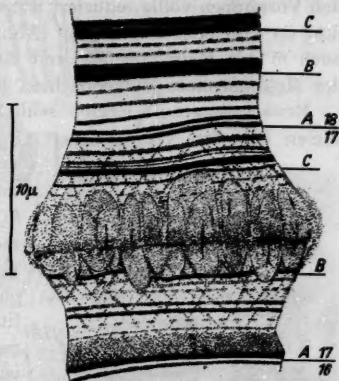


Abb. 36. Nebennukleolen-Bildungsort im Unterabschnitt 17B des 1. Speicheldrüsen-Chromosoms. KE-Euparal; 2660mal.

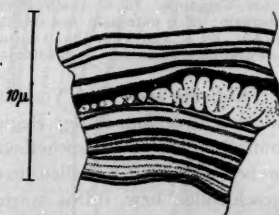


Abb. 37. Heterozygote Anschwellung nach Kältevorbehandlung (4. Speicheldrüsen-Chromosom). KE-Euparal; 2660mal.

den Larven, andere nur bei den Vorpuppen, und eine 3. Gruppe in beiden Stadien vorkommen. So findet sich z. B. in den larvalen Speicheldrüsen eine Anschwellung im Abschnitt 19A des 1. Chromosoms, die in den Vorpuppen völlig reduziert ist; umgekehrt tritt hier eine Anschwellung im Abschnitt 18C neu auf (Abb. 38). Ähnliche Veränderungen sind auch in den Malpighigefäß- und Rectum-Chromosomen bei Einsetzen der Metamorphose zu beobachten (s. unten).

Erwartungsgemäß ergibt schließlich der Vergleich der Chromosomen aus den verschiedenen Organen, als funktionell weitgehend

verschiedenen Teilen des Organismus, die auffälligsten Unterschiede in der Ausprägung von Strukturmodifikationen; einige Beispiele dafür werden im folgenden näher besprochen (auf die Speicheldrüsen-Spezifität der Balbiani-Ringe des 4. Chromosoms wurde oben schon hingewiesen).

Zur Methodik sei hier noch darauf aufmerksam gemacht, daß wenn nicht ausdrücklich anders vermerkt, in den Abbildungen jeweils nur in gleicher Weise fixierte und gefärbte Chromosomen ein und desselben Individuums miteinander verglichen werden, und daß die Einzelzeichnungen den für den betreffenden Chromosomenabschnitt in allen Zellen des untersuchten Organes jeweils typischen Zustand wiedergeben.



Abb. 38a u. b. Rechtes Ende des 1. Speicheldrüsen-Chromosoms im Leben. a Aus einer großen Larve; b aus einer Vorpuppe. In a Anschwellung oberhalb; in b unterhalb der Scheibe 19A1. Zu a vgl. Abb. 40a. Lebend, in Paraffinöl; Phasenkontrast, 1500mal.

Abb. 39 zeigt die Verhältnisse im Bereich der schon erwähnten kleinen Inversion in der Region 14 des 3. Chromosoms. Der Abschnitt umfaßt etwa 40 Querscheiben (im Mitteldarm) und läßt in den 4 Geweben insgesamt 6 Stellen (in der Abbildung beziffert) erkennen, die angeschwollen bzw. diffus erscheinen. Im einzelnen Organ zeigt jeweils nur ein Teil dieser Stellen Strukturveränderungen, im Mitteldarm treten solche im dargestellten Abschnitt überhaupt nicht auf. Einzelne Querscheiben können in verschiedenen Geweben gleichzeitig modifiziert erscheinen, andere nur in einem Organ. Zwischen den in verschiedenen Geweben gleichzeitig modifizierten Stellen gibt es außerdem Unterschiede im Modifikationsgrad (vgl. Punkt 4 in Rectum und Malpighigefäß). Die allgemeine Armut an Strukturmodifikationen ist für die Mitteldarm-Chromosomen typisch, in geringerem Ausmaß auch für die Speicheldrüsen-Chromosomen.

Die Unterabschnitte 18A bis 19B des 1. Chromosoms (Abb. 40) enthalten eine auffallende Gruppe von 3 Doppelscheiben. Infolge einer

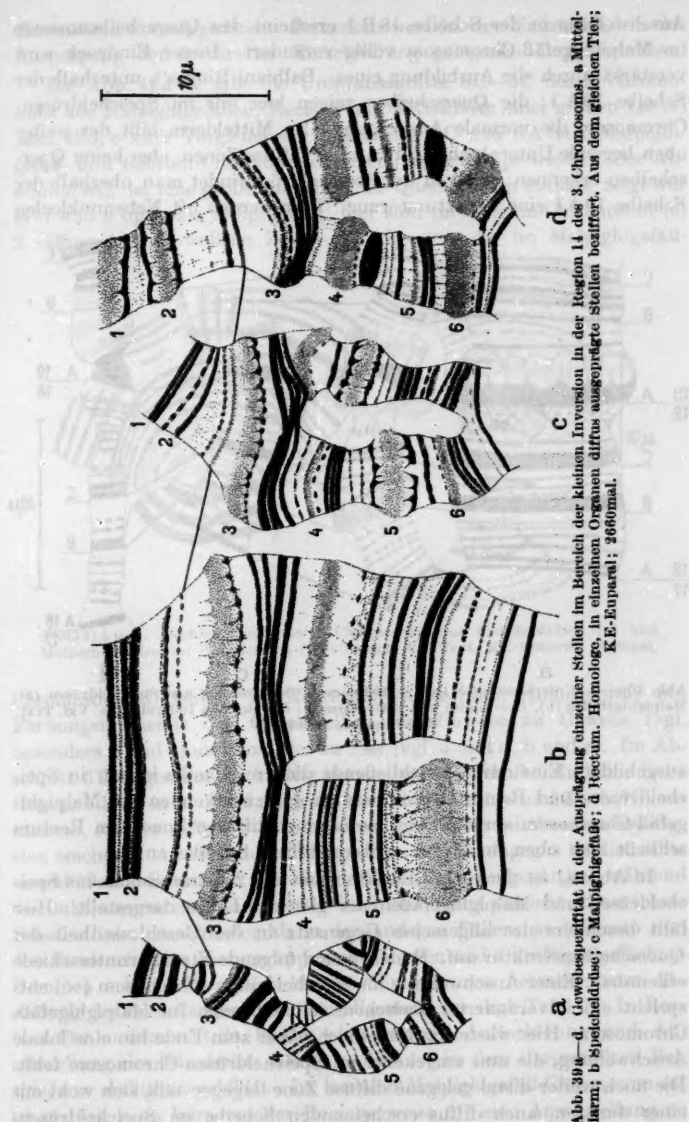


Abb. 39 a—d. Gewebespezifität in der Ausprägung einzelner Stellen im Bereich der kleinen Inversion in der Region 14 des 3. Chromosoms. a Mitteldarm; b Speicheldrüse; c Malpighigefäße; d Rectum. Homologe, in einzelnen Organen diffus ausgeprägte Stellen beschriftet. Aus dem gleichen Tier; KE-Euparel; 3680mal.

Anschwellung in der Scheibe 18B1 erscheint das Querscheibenmuster im Malpighigefäß-Chromosom völlig verändert. Dieser Eindruck wird verstärkt durch die Ausbildung eines „Balbani-Ringes“, unterhalb der Scheibe 19A1; die Querscheiben zeigen hier nur im Speicheldrüsen-Chromosom die normale Ausprägung. Im Mitteldarm läßt der weiter oben liegende Unterabschnitt 19A zwei diffuse Zonen, aber keine Querscheiben erkennen; auch in der Speicheldrüse findet man oberhalb der Scheibe 19A1 eine Strukturstörung. Hier werden oft Nebennukleolen

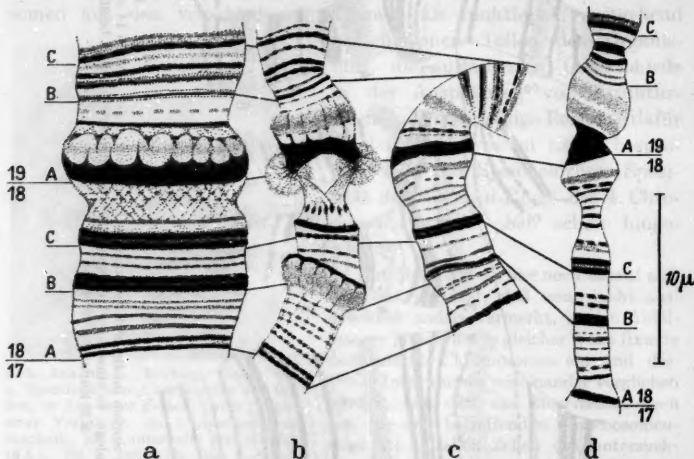


Abb. 40a—d. Unterabschnitte 18A — 19B des 1. Chromosoms; aus Speicheldrüsen (a), Malpighigefäßen (b), Rectum (c) und Mitteldarm (d) des gleichen Individuums. Vgl. Text. KE-Euparal; 2660mal.

ausgebildet. Eine daran anschließende dickere Scheibe ist nur in Speicheldrüsen- und Rectum-Chromosomen gut zu erkennen; im Malpighigefäß-Chromosom verschwindet sie in einer diffusen Zone. Im Rectum schließt sich oben noch eine weitere diffuse Scheibe an.

In Abb. 41 ist der rechte Endabschnitt des 2. Chromosoms aus Speicheldrüsen und Malpighigefäßen der gleichen Larve dargestellt. Hier fällt besonders der allgemeine Gegensatz in der Geschlossenheit der Querscheibenstruktur auf. Daneben sind folgende Strukturunterschiede erkennbar: Einer Anschwellung im Speicheldrüsen-Chromosom (x) entspricht ein unveränderter Zwischenscheibenbereich im Malpighigefäß-Chromosom. Hier wiederum findet sich näher zum Ende hin eine lokale Anschwellung, die nun umgekehrt im Speicheldrüsen-Chromosom fehlt. Die noch weiter distal gelegene diffuse Zone dagegen läßt sich wohl mit einer dunklen, auch diffus erscheinenden Scheibe im Speicheldrüsen-

Chromosom homologisieren. Bemerkenswert ist der Unterschied in der Ausprägung der 3 vor der Einschnürung gelegenen Doppelscheiben.

Die Abb. 42a—c gibt die Unterabschnitte 5C—6C des 3. Chromosoms aus Malpighigefäßen, Rectum und Mitteldarm einer großen Larve, Abb. 42d, e zum Vergleich die Abschnitte 5C und 6A von Malpighigefäß- und Rectum-Chromosomen einer jungen Puppe wieder. Der Abschnitt 5C, der eine große Anzahl feiner Querscheiben enthält, zeigt nur in d und e optimale Ausprägung; hier sind im Rectum-Chromosom (e) 2 diffuse angeschwollene Zonen zu erkennen, die im Malpighigefäß-

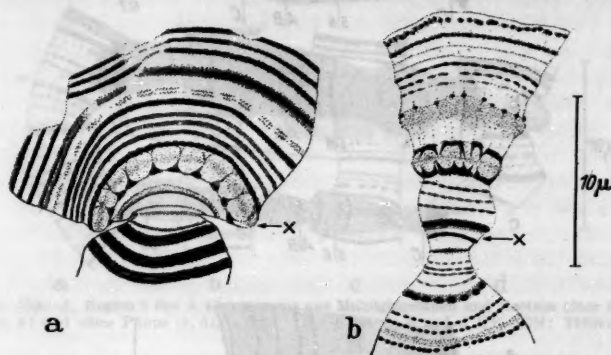


Abb. 41a u. b. Rechtes Ende des 2. Chromosoms aus Speicheldrüsen (a) und Malpighigefäßen (b) des gleichen Individuums, Vgl. Text. KE-Euparal; 2660mal.

Chromosom (d) fehlen. Im Abschnitt 6A wechseln Homogenität und Färbungsintensität der Querscheiben von Gewebe zu Gewebe (vgl. besonders d und e) und von Tier zu Tier (vgl. a und d, b und e). Im Abschnitt 6B folgen auf die kräftig hervortretende Scheibe, die seine linke Grenze bildet, in a, c und e jeweils eine blasse diffuse und 3 scharf konturierte, stärker gefärbte Scheiben, von denen die mittlere am kräftigsten erscheint und auch in b und c gleich aussieht; dagegen ist die rechts anschließende Scheibe in b in einer diffusen Zone aufgegangen, während die links angrenzende in d relativ blaß und diffus aussieht; die nächste Scheibe links ist schmaler als in den anderen Fällen, so daß man nun den Eindruck einer Vierergruppe aus 2 blassen und 2 kräftiger gefärbten Scheiben erhält. In Speicheldrüsen-Chromosomen herrscht diese Abstufung der betreffenden Scheiben allgemein vor (vgl. Tafel 2). In Rectum-Chromosomen tritt häufig eine faserige Auflockerung und Anschwellung des Abschnitts 6B ein; diese ist in dem dargestellten Beispiel nur mäßig ausgebildet. Im larvalen Malpighigefäß-Chromosom (a) ist endlich noch kurz vor der Regionsgrenze 6/7 eine Anschwellung zu

erkennen, die in b und c fehlt. Das Mitteldarm-Chromosom besitzt im Abschnitt 6A, wie schon früher erwähnt, eine charakteristische Einschnürung.

Welche Modifikationen homologe Abschnitte, auch im gleichen Gewebe, in Individuen verschiedener Herkunft und Entwicklungsstufe

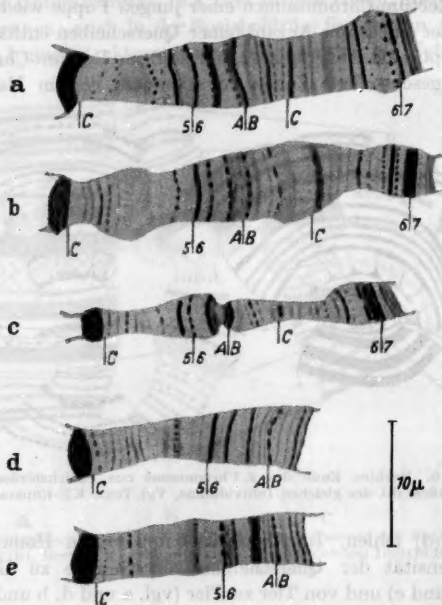


Abb. 42a—e. Unterabschnitte 5C—6C (a, b, c) bzw. 5C und 6A (d, e) des 3. Chromosoms aus Malpighigefäßen (a), Rectum (b) und Mitteldarm (c) einer großen Larve, und aus Malpighigefäßen (d) und Rectum (e) einer Puppe. Näheres im Text. a, b, c KE-Euparal; d, e KE-OEM; 2000mal.

erfahren können, kommt besonders in der Abb. 43 zum Ausdruck. Es ist die Region 9 des 3. Chromosoms von Malpighigefäß und Rectum dargestellt, einmal (a, b) aus einer großen Larve (Plöner Material, Kältevorbehandlung), zum anderen (c, d) aus einer Puppe (Labormaterial). Eine Anschwellung des larvalen Rectum-Chromosoms ganz links (unten) in dem herausgezeichneten Bereich scheint für dieses Gewebe spezifisch zu sein; sie wurde in anderen Organen bisher nicht beobachtet, wo man an ihrer Stelle eine blasse, diffuse Querscheibe findet. Im rechten (oberen) Drittel des dargestellten Abschnitts tritt in larvalen Rectum-Chromosomen noch eine weitere diffuse Zone auf, die 2 im Malpighigefäß-

Chromosom des gleichen Tieres sichtbare, kräftig gefärbte Scheiben verdeckt. An sie schließt sich links in beiden Fällen eine granuliert-diffuse Scheibe an (×). Mit dieser läßt sich die auffallende, oft den Umfang eines Nukleolus erreichende diffuse Anschwellung der Malpighigefäß- und Rectum-Chromosomen der Puppe (c, d) homologisieren. Die zwei erwähnten kräftig gefärbten Scheiben liegen in diesem Fall deutlich außerhalb des angeschwollenen Bereiches. In larvalen Chromosomen, auch aus anderen Geweben, ist diese diffuse Anschwellung nie beobachtet worden; andererseits findet man sie auch in den Speicheldrüsen-

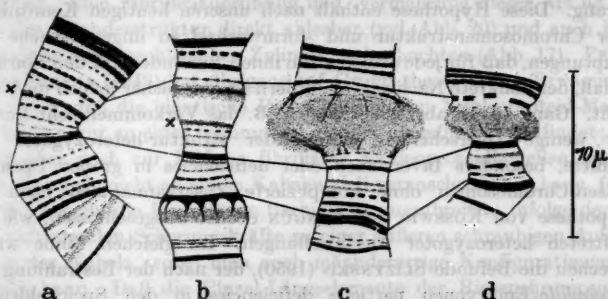


Abb. 43a—d. Region 9 des 3. Chromosoms aus Malpighigefäßen und Rectum einer Larve (a, b) und einer Puppe (c, d). a und b KE-Euparal; c und d KE-OEM; 2660mal.

Chromosomen der Vorpuppe. Sie steht daher wohl im Zusammenhang mit den Metamorphoseprozessen.

F. Diskussion der Ergebnisse.

1. Polytänie und Spiralstruktur.

Die Auffassung, daß die Riesenchromosomen der Dipteren eine multiple, polytäne Struktur besitzen, also Bündel von zahlreichen Einzelchromosomen darstellen, kann heute als gesichert gelten; die Gründe für diese Annahme sind erst vor kurzem ausführlich diskutiert worden (BAUER und BEERMANN 1952). Eines dieser Argumente ist die Tatsache, daß sich in den Riesenkernen anderer Insekten Polyploidiestufen von bis zu 1024 n direkt auszählen lassen (GETTLER 1938) und daß nicht einzusehen ist, warum dieses allgemeine Verdoppelungsprinzip in der Zunahme der Chromosomensubstanz gerade bei den Dipteren durch ein grundsätzlich anderes ersetzt sein sollte. Die Polytänienstufe großer Speicheldrüsen-Chromosomen von *C. tentans* kann unter Voraussetzung einer Kernvolumen-Proportionalität auf etwa 16000 n geschätzt werden, da der Durchmesser embryonaler Kerne etwa 4μ , derjenige großer Kerne etwa 100μ beträgt. Hiermit stimmt ein direkter Volumen-

vergleich von Metaphase-Chromosomenpaaren mit den homologen großen Speicheldrüsen-Chromosomen überraschend gut überein: das Verhältnis ist ebenfalls etwa 1:16000.

KOSSWIG und SENGÜN (1947 u. f.) leugnen ein Wachstum der Riesenchromosomen durch Polyänisierung nicht vollständig, lassen dieses aber sehr früh, kurz nach dem Spiralstadium, abbrechen; die Spirale soll dabei, wie schon oben dargestellt, in ihre einzelnen Umgänge zerstückelt werden, und die einzelnen Längselemente sollen dann die neuen Querscheiben bilden; das weitere Wachstum erfolge ohne Polyänisierung. Diese Hypothese enthält nach unseren heutigen Kenntnissen über Chromosomenstruktur und -formwechsel so ungewöhnliche Behauptungen, daß für jede einzelne von ihnen, zumindest für den Spiralenzerfall, der konkrete Nachweis zu fordern ist, der bisher jedoch noch aussteht. Ganz davon abgesehen wäre z. B. das Vorkommen sehr kurzer, nur wenige Querscheiben umfassender struktur-heterozygoter Abschnitte, besonders Inversionen oder deficiencies in großen Speicheldrüsen-Chromosomen ohne komplizierte Zusatzannahmen nach der Hypothese von KOSWIG und SENGÜN ebenso ausgeschlossen, wie das Auftreten heterozygoter Anschwellungen. Im gleichen Sinne widersprechen die Befunde SLIZYNSKI (1950), der nach der Bestrahlung von *Drosophila*-Embryonen partielle deficiencies in den Speicheldrüsen-Chromosomen nachweisen konnte, der Hypothese von KOSWIG und SENGÜN.

Den Beweggrund dafür, in dem Spiralstadium ein besonders kritisches Entwicklungsstadium der Riesenchromosomen zu sehen, bildete für KOSWIG und SENGÜN offenbar vor allem der Umstand, daß keine Abwicklung der Spiralumgänge erfolgt, und daß das Chromosom unter anhaltendem Längen- und Dickenwachstum schließlich glatt zylindrisch erscheint und die Querscheiben senkrecht zur neuen Chromosomenachse liegen; diese Beobachtungen scheinen ihnen mit der Annahme einer weiteren bloßen Vermehrung der Längselemente unvereinbar und führen sie dazu, einen Zerfall in „Blöckchen“ zu postulieren. Zu diesem Schluß mögen KOSWIG und SENGÜN auch die komplizierten räumlichen Strukturverhältnisse des Mäanderstadiums verleitet haben, wo man ja tatsächlich zunächst eine nur durch kurze, schmale Verbindungsstücke zusammengehaltene Kette von breiten Chromosomen-„Blöckchen“ zu sehen vermeint, deren Anzahl darüber hinaus noch derjenigen der Spiralschwindungen im vorhergehenden Stadium etwa gleichkommt. Die im speziellen Teil dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse über die Entwicklung der Speicheldrüsen-Chromosomen bei *C. tentans* haben gezeigt, daß die Annahme eines Spiralenzerfalls mit anschließender Blöckchenbildung unzutreffend ist und daß sich alle eben angeführten Erscheinungen zwanglos als Folge der Polyänisierung deuten lassen.

Schon BRIDGES (1935) und BAUER (1935) hatten erkannt, daß die Fibrillen der Riesenchromosomen (damals noch als „Chromosomen“ bezeichnet) schraubig gewunden sind. Die schrittweise Vermehrung solcher schraubiger Längselemente und ihr Vereinigtbleiben müssen aber zunächst zu äußerlicher Knäuelung und dann Spiralisierung der Fibrillenverbände, später zur „Mäander“-Bildung und schließlich zur Herstellung geschlossener Kabel führen, wenn die Aneinanderlagerung der neugebildeten Längselemente nicht zufallsmäßig, sondern vorzugsweise in einer Schicht erfolgt und wenn die Steigung der Fibrillenschrauben nicht zu groß ist. Eine Fibrillenanzordnung und -vermehrung dieser Art ist nun aus der Mäanderstruktur direkt ablesbar (vgl. Abb. 20) und auch beim Übergang zum geschlossenen Zylinder zu beobachten (Abb. 17). FRIEDRICH-FREKSA (1948) hat übrigens auf Grund theoretischer Erwägungen gefordert, daß die identische Reproduktion von Nukleoprotein-Makromolekülen nur an einer bestimmten Vermehrungsfläche stattfindet; dies muß aber auch zur Bildung fibrillärer Nukleoproteidlamellen führen. Wie man sich leicht an einem Kabelmodell veranschaulichen kann, führt jeder Versuch, die Einzelfäden flächenhaft auszubreiten, infolge der dabei auftretenden Scherungskräfte zu einer äußeren schraubigen Aufwindung des Kabels, wobei man auch mäanderartige Konfigurationen erhalten kann. Daß die Einzel-Längselemente der Riesenchromosomen vom Beginn der Polyänisierung an Schraubenstruktur besitzen, ist selbstverständlich, sobald man annimmt, daß sie den Längselementen mitotischer Chromosomen, deren Schraubenstruktur bewiesen ist, homolog sind. Nach neueren Befunden ist es durchaus denkbar, daß die Spiralisierung schon auf der molekularen Ebene beginnt: PAULING, COREY und BRANSON (1951) fordern für die Polypeptidketten in den meisten Proteinen einen regulären Schraubenbau.

Mit der Streckung submikroskopischer Spiralen ließe sich vor allem das beträchtliche Längenwachstum der polyänen Chromosomen verständlich machen; denn sie läßt sich, wie die vorliegende Untersuchung gezeigt hat, nicht auf eine Abwicklung oder Streckung der sichtbaren Spiralwindungen der Fibrillen zurückführen: Die Anzahl der Windungen bleibt während des Längenwachstums konstant, und für eine wesentliche Zunahme ihrer Steigung gibt es keine Anhaltspunkte.

Die Frage, ob die Windungsrichtung aller Fibrillen die gleiche ist, bleibt noch offen: Bei näherer Untersuchung der Fibrillenanzordnung in ungedehnten Speicheldrüsen-Chromosomen findet man oft in allen Einstellebenen sowohl links als auch rechts zur Längsachse geneigt verlaufende Fibrillenstränge (vgl. BAUER 1935 und Abb. 17). Dieses besonders bei leichter Dehnung auffallende „criss-cross pattern“ führt METZ (1941) als Argument gegen die Realität der Fibrillenstruktur an; da aber

die Fibrillen durch mehrere Querscheiben hindurch zu verfolgen sind, und da keineswegs in jeder Einstellebene gleich viele Stränge nach links und nach rechts laufen, ist dieser Einwand nicht stichhaltig. Die Annahme, alle Fibrillen seien im gleichen Sinne spiralisiert, ergibt weiterhin Schwierigkeiten bei der Deutung der Mäanderstruktur; es ist nämlich nicht möglich, alle Punkte eines „Mäander“-Modells (Abb. 14) durch einsinnige, nicht unterbrochene Schraubenlinien zu verbinden, während dies bei Hinzunahme von im Gegensinn gewundenen leicht gelingt. Die Frage der Windungsrichtung kann vorläufig nicht entschieden werden; bei mitotischen Chromosomen ist die Umkehr der Spiralwindungen bekannt (vgl. KAUFMANN 1948).

Der Vergleich der Riesenchromosomen verschiedener Gewebe ergab, daß ihr Strukturzustand unabhängig vom Polytäniegrad weitgehend auch durch die inneren Bedingungen beeinflußt wird: Während z. B. in Mitteldarmkernen von 30–50 μ Durchmesser die Chromosomen spiralisiert sind, enthalten Speicheldrüsenkerne der gleichen Größe Mäander-Chromosomen; das Spiralstadium wird von den Speicheldrüsen-Chromosomen auf einer sicher erheblich niedrigeren Polytäniestufe durchlaufen. Zu dem entsprechenden Schluß kommt man auch durch einen Vergleich der Dimensionen der Mäander-Chromosomen in Malpighigefäß- und Speicheldrüsenkernen (Abb. 12 und 16a). Man kann also keineswegs, wie z. B. BOGOJAWLENSKI (1935), die Chromosomenstruktur kleinerer Kerne ohne Rücksicht auf die Organzugehörigkeit als Vorstufe derjenigen größerer Kerne des gleichen Individuums ansehen.

Die dargestellten gewebespezifischen Unterschiede lassen sich am einfachsten als konstante Unterschiede in der Steigung der Schraubenwindungen der Einzelfibrillen in den Chromosomen deuten; so dürften auch die verschiedenen Kontraktionszustände der Speicheldrüsen-Chromosomen bei Larven verschiedener Entwicklungsgeschwindigkeit zu verstehen sein, auf welche im speziellen Teil schon hingewiesen wurde. Der spezifische Spiralisierungszustand der Fibrillen in Speicheldrüsen-Chromosomen dürfte ferner ihre allgemein stärkere Stauchung und charakteristische terminale Fächerbildung bewirken.

Nach dem Obengesagten kann kein Zweifel mehr daran bestehen, daß die äußere Struktur der Riesenchromosomen im wesentlichen durch die Eigenschaften der Einzelfibrillen, ihre Anordnung und ihre Anzahl bestimmt wird. METZ (1941) ist bei grundsätzlicher Anerkennung der Möglichkeit einer polytänen Struktur in diesem Punkte anderer Ansicht: Den submikroskopischen Längselementen kommt danach lediglich die Rolle eines plastischen Kontinuums („optically continuous substance“) zu, in welches Tröpfchen achromatischen Materials als die eigentlichen strukturbildenden Elemente eingebettet sind. Der mikroskopisch sichtbare schraubige Fibrillenbau soll nur eine Illusion sein,

die durch die alternierende Lage der aufeinanderfolgenden Wabenwände hervorgerufen werde: „zig-zag or granular lines interpreted as chromomata“. Die Richtigkeit dieser aus Untersuchungen an einem ungünstigen Objekt abgeleiteten „Waben“-Hypothese — der Durchmesser der *Sciara*-Speicheldrüsen-Chromosomen schrumpft bei der Fixierung um mehr als 50% (DOYLE und METZ 1935) — ist schon deswegen anzuzweifeln, weil nach METZ und LAWRENCE (1937) und POULSON und METZ (1938) gerade die als Strukturelemente angesehenen „droplets“ in ihrem Auftreten außerordentlich variabel sind. Sind somit die METZschen Vorstellungen auf Riesenchromosomen zylindrischer Gestalt schon schwierig anwendbar, so versagen sie vollständig bei der Deutung komplizierterer Strukturen, z. B. aller dem Endstadium vorausgehenden Spiralisierungsstufen, insbesondere der Mäanderstruktur; diese sind aber keine Eigentümlichkeit von *C. tentans* allein, sondern treten gesetzmäßig bei einer Vielzahl der verschiedensten Chironomiden (eigene Beobachtung) und zumindest in Form der reinen Spiralstruktur auch bei anderen Dipteren auf (BUCK 1937, FROLOWA 1938, KOLLER 1935 u. a.).

In diesem Zusammenhang sei noch auf die Abb. 20 verwiesen; wollte man die hier erkennbaren „Waben“ grob mechanisch als Folge der Abscheidung von Tröpfchen erklären, so wäre es recht schwer zu verstehen, wie sich diese Tröpfchen in der höchstens 2μ dicken Chromosomenlamelle überhaupt halten können, wenn sie selbst schon $1,5\mu$ dick und gar nicht vollständig von Fibrillen umspannt sind. Hier erscheint es überflüssig, eine strukturbildende Funktion der ohnehin hypothetischen Tröpfchen überhaupt zu diskutieren. Das Auftreten von Lücken im Fibrillenverband beruht offenbar auf einer durch die Granulation benachbarter Querscheiben hervorgerufenen Gliederung in Teilbündel, ihre kreisrunde Begrenzung ist als Folge von Oberflächenkräften zu verstehen. Daß einzelne Querscheiben zur Aufteilung in Granula jeweils verschiedener Größe neigen, ist als Anzeichen verschiedener chemischer Struktur zu werten; jedenfalls hat diese Erscheinung andere Ursachen als METZ sie im Rahmen seiner Wabenhypothese annimmt; nach ihm fließt nämlich das „Chromatin“ der Querscheiben in die Lücken zwischen den Tröpfchen achromatischen Materials ein und bildet dort Granula: „An individual granule may contain material from two or more chromatic disks“ und „the chromatin extends from one disk to the next in the form of what is essentially a continuum“. Ein Blick auf die Abb. 20, insbesondere die Fibrillensäulchen im Bereich der Querscheiben a und b, lehrt, daß diese Anschauung unzutreffend ist, und daß die Individualität aller, auch der feinsten Querscheiben von der Wabenbildung unberührt bleibt.

Sieht man den Aufbau aus schraubig gewundenen Fibrillen als die allgemeine Grundlage der Riesenchromosomen-Struktur an, so wird

schließlich auch eine befriedigende Deutung der Balbiani-Ringe möglich, so wie es in dem abgebildeten Schema zum Ausdruck kommt (Abb. 44). Nach dieser Auffassung sind Balbiani-Ringe Stellen, wo der Fibrillenverband von beiden Seiten her in immer feinere Teilverbände und schließlich in die submikroskopischen Längselemente selbst auseinanderspreizt, ohne daß diese ihren schraubigen Verlauf aufgeben; das ist nur unter gleichzeitiger Schleifenbildung möglich, so wie es in dem Schema für 2 Viererverbände dargestellt ist. Dabei wurde voraus-

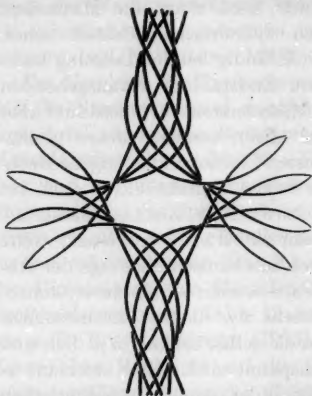


Abb. 44. Schema des Fibrillenverlaufs im Balbiani-Ring (vgl. Text).



Abb. 45. Modell „Balbiani-Ring“ (vgl. Text).

gesetzt, daß die Fibrillen zu je 2 und 2, 4 und 4 usw. in hierarchischer Ordnung umeinander gewunden sind — eine Annahme, die durch die Befunde GRELLS (1946) über den Zerfall polytärer Chromosomen im Ileum von *Culex* gestützt wird. Da die Peripherie des Balbiani-Ringes in Pol- oder Schrägansicht die gleiche leicht wellige Kontur wie in der normalen Äquatorialansicht besitzt, scheinen die peripheren, dünnsten Teile der Fibrillenschleifen ziemlich spitze Winkel zu bilden. Bei der zu beobachtenden starken Streckung und damit wahrscheinlich Verjüngung der Fibrillen zur Peripherie hin wäre ein solcher Verlauf auch aus mechanischen Gründen zu erwarten. Für die hier gegebene Interpretation der Balbiani-Ringe sprechen insbesondere ihre regelmäßige rotations-symmetrische Gestalt mit den kegelförmigen Aussparungen und die Erscheinung, daß die angrenzenden Chromosomenabschnitte oft regelrecht ineinandergeschoben sind, so daß sich die Teilbündel von beiden Seiten her überschneiden. Nur die in einem Kabel wirksamen Torsionskräfte können einen ähnlichen Erfolg haben; dies läßt sich einfach an einem Bindfadenmodell veranschaulichen (Abb. 45).

Im Grunde setzt demnach die Bildung von Balbiani-Ringen lediglich die Aufhebung des Zusammenhalts der Fibrillen an bestimmten Orten und eine Herabsetzung ihrer mechanischen Stabilität an diesen Stellen voraus, so daß sich die isolierten Abschnitte schleifenartig aus dem Chromosom herausbiegen. Die schrittweise Aufspaltung der angrenzenden Abschnitte in Teilbündel abnehmender Feinheit könnte dadurch bedingt sein, daß der bei Vermehrung der Längselemente wachsende Spreizungsdruck sich zunächst auf die bereits bestehenden Spreizstellen auswirkt, wodurch diese immer weiter aufreißen, während die zahlreichen, in den späteren Phasen der Polytänisierung neu entstehenden Trennstrecken entsprechend weniger weit reichen. Es wäre andererseits auch möglich, die progressive Aufteilung der Fibrillenbündel mit dem Längenwachstum in Verbindung zu bringen, so etwa, daß in den Chromosomen von niedrigerer Polytänienstufe und damit geringerer Länge relativ größere Abschnitte unter der Wirkung eines Spreizungsfaktors stehen als später. Eine Neubildung von Balbiani-Ringen an bereits hochpolytänen Chromosomen wurde bisher nicht beobachtet und ist wahrscheinlich auch nicht möglich. Welche spezifischen Veränderungen in der Feinstruktur der als Bildungsorte der Balbiani-Ringe erkannten Querscheiben die beschriebenen Wirkungen auslösen, ist unbekannt; sie dürften ebenso wie die übrigen Strukturmodifikationen funktionell bedingt sein.

2. Querscheibenkonstanz und Strukturmodifikationen.

Wie es nach der Polytäniehypothese, nach dem Tatsachenmaterial der *Drosophila*-Cytogenetik und nach den Untersuchungen von BERGER (1940) und SLIZYNSKI (1950) an *Sciara* und *Drosophila* zu erwarten war, enthalten auch bei *Chironomus* alle Zellen eines Individuums, mindestens in den untersuchten Organen, den gleichen Chromosomensatz mit dem vollständigen und in seiner Anordnung unveränderten Bestand an Querscheiben.

Zahlenkonstanz der Querscheiben kann nur indirekt erschlossen werden, denn bekanntlich ist die Erkennbarkeit der feinsten, optisch kaum auflösbaren Querscheiben starken präparativ und konstitutiv bedingten Schwankungen unterworfen. Selbst wenn man einen direkten Beweis auf statistischem Wege führen wollte, müßte man für verschiedene Organe verschiedene Querscheibenanzahlen erhalten (vgl. S. 168), da, wie im speziellen Teil betont wurde, die allgemeine Deutlichkeit des Querscheibenbaues gewebespezifisch verschieden ist. Eine reale Zahlenvariabilität kann nicht vorliegen, weil die Zahlenschwankungen immer nur auf das Konto der feinsten Querscheiben gehen. Auch während des Wachstums der polytänen Chromosomen werden ja nur zunehmend feinere Querscheiben erkennbar, nicht etwa auch neue stark gefärbte.

Da die Konstanz der Anordnung der Querscheiben morphologisch erwiesen ist, und da das Wachstum der Riesenchromosomen auf identischer Reproduktion und Streckung der Längselemente beruhen muß, kann auch kein Zweifel an der Konstanz der Anzahl der Querscheiben bestehen.

Die Auffassungen von KOSWIG und SENGÜN über die Variabilität des Querscheibenmusters (vgl. S. 160) werden begreiflicher, wenn man bedenkt, daß sie auf vergleichenden Untersuchungen am 4. Chromosom basieren. Wie im speziellen Teil schon erwähnt wurde, liegen bei diesem Chromosom besondere Verhältnisse vor, die die Querscheibenhomologisierung stark komplizieren. Es ist durchaus möglich, daß das 4. Chromosom der von KOSWIG und SENGÜN untersuchten Species ähnliche Schwierigkeiten bietet¹. Auch bei fernerstehenden Chironomiden weichen die kurzen Chromosomen in ihrer Struktur häufig von den anderen Chromosomen ab: In der Speicheldrüse von *Sergentia longiventris* (BAUER 1945) sind sie unverhältnismäßig dünn, und MELLAND (1942) fand bei einer Larve von *Anatopynia varius* 4. Chromosomen, die um ein vielfaches dicker als die langen Chromosomen waren.

KOSWIG und SENGÜN haben aus ihren als unzutreffend erwiesenen cytologischen Anschauungen ein neuartiges entwicklungsphysiologisches Prinzip über den Zusammenhang zwischen Zelldifferenzierung und Chromosomenstruktur abzuleiten versucht: Durch einen gewebespezifisch verschiedenartigen Spiralenzerfall sollen neue spezifische Lagebeziehungen zwischen den Genen hergestellt werden, welche dann in der Art einen position effect auf die Zelldifferenzierung Einfluß gewinnen könnten. Diese Hypothese übersieht, daß die Differenzierung der larvalen Organe bereits in der Embryonalentwicklung erfolgt; bei *Chironomus tentans* beginnen z. B. die Speicheldrüsen wenige Stunden nach dem Ausschlüpfen der Larven zu funktionieren, wie man an dem Bau von Gehäusen erkennt, und weder im 2. noch im 3. Larvenstadium — dem für einen etwaigen Spiralenzerfall in Frage kommenden Zeitabschnitt — findet eine erkennbare Änderung ihrer Funktion statt.

Ein Zusammenhang zwischen Zelldifferenzierung und Chromosomenstruktur der Art, wie ihn KOSWIG und SENGÜN sich vorstellen, besteht nicht. Der Zwang einer genauen Nachprüfung ihrer Angaben hat jedoch zur Aufdeckung ganz anderer cytologisch-zellphysiologischer Beziehungen geführt: Wie im speziellen Teil ausführlich dargelegt wurde, ist die Zellfunktion mit der Ausbildung von Strukturmodifikationen im Querscheibenmuster korreliert.

¹ Herr Dr. SENGÜN hat mir freundlicherweise mündlich mitgeteilt, daß er bei einer Untersuchung der langen Chromosomen an seinem Material keine wesentliche Variabilität im Querscheibenmuster hat feststellen können.

Strukturmodifikationen sind alle lokalen, nachweisbar von einzelnen Querscheiben bzw. Zwischenscheiben ausgehenden temporären oder permanenten Veränderungen in der Fibrillenfeinstruktur oder -bündelung. Hierher gehören vor allem die in ihrer Bedeutung bisher nicht erkannten „puffs“ und die Balbiani-Ringe, aber auch alle solche Modifikationen, die in ihrer Ausdehnung auf die veränderten Querscheiben selbst beschränkt bleiben (diffuse Zonen usw., vgl. S. 177). Die Zurückführung dieser Erscheinungen auf einzelne Querscheiben und die Erkenntnis, daß sie in ihrem Auftreten voneinander unabhängig sind, bilden einen neuen morphologischen Beweis dafür, daß die Funktionseinheiten der Riesenchromosomen — im Gegensatz zu der Auffassung R. GOLDSCHMIDTS (1950) — nicht größer als einzelne Querscheiben sind.

Nach den Befunden der Cytogenetik sind die Querscheiben oder die Zwischenscheiben der polytären Chromosomen als die Genorte anzusehen. Sichtbare strukturelle Veränderungen der Genloci sind offenbar eine Folge oder Begleiterscheinung funktioneller Zustandsänderungen. Hiermit ergibt sich die Möglichkeit, direkte Aussagen über die Genfunktion in verschiedenen Individuen, verschiedenen Entwicklungsstadien, verschiedenen Organen und verschiedenen Zellen zu machen. Dabei ist zu berücksichtigen, daß wohl aus Strukturunterschieden auf Funktionsunterschiede, nicht aber aus Strukturgleichheit umgekehrt auf Funktionsgleichheit homologer Querscheiben in verschiedenen Organen geschlossen werden kann, da die Ausbildung von Strukturmodifikationen möglicherweise ein Schwellenphänomen ist; wenn dies der Fall ist, würden sich Unterschiede unterschwelliger Genaktivitäten nicht als Strukturunterschiede bemerkbar machen. In solchen Fällen jedoch, wo homologe Querscheiben in verschiedenen Organen eines Individuums die gleiche von der Normalausprägung in anderen Individuen deutlich abweichende Strukturmodifikation erkennen lassen, darf wohl für alle Organe eine besondere, durch übergeordnete Faktoren ausgelöste Aktivität der betreffenden Gene angenommen werden; solche Erscheinungen werden z. B. zu Beginn der Metamorphose beobachtet (vgl. S. 179).

CASPARI (1949) hat in einer Übersicht über neuere genphysiologische Arbeiten die Frage des „Manifestationsmusters“ der Genwirkung in der Entwicklung des Organismus diskutiert. Die Annahme, daß ein Gen immer nur eine bestimmte chemische Wirkung haben kann, ist gut begründet; wenn also Zellen eines Individuums trotz gleichen Genbestandes verschieden funktionieren, kann diese Differenzierung nur auf durch den Entwicklungsablauf bedingten Änderungen im Gensubstrat (qualitativ ungleiche Plasmaverteilung, Herstellung neuer räumlicher Beziehungen usw.) beruhen. Diese Veränderungen veranlassen

ihrerseits die in den Strukturmodifikationen der Chromosomen zutage tretenden Unterschiede in der Aktivität der Gene, offenbar auf dem Wege von Konzentrationsänderungen unmittelbar benötigter oder aber hemmend bzw. fördernd wirkender Stoffe im Gen-„Milieu“.

Dem jeweiligen Funktionszustand einer Zelle entspricht also ein bestimmtes „Muster“ der Genaktivitäten, so wie ihm in den Riesenzellen der Dipteren — zumindest der Chironomiden (vgl. BEERMANN 1952) — ein bestimmtes Muster unmittelbar erkennbarer Strukturmodifikationen der polytären Chromosomen entspricht. Ob exakte Aussagen über Art und Menge der im Bereich der Strukturmodifikationen gebildeten Substanzen möglich sind, müssen cytochemische Untersuchungen zeigen; solche Arbeiten sind geplant.

Die Seltenheit von heterozygoten Strukturmodifikationen, selbst im Bastard *C. tentans* \times *C. pallidivittatus* (BEERMANN, unveröffentlicht), führt zu der Frage, ob Allelunterschiede sich im allgemeinen morphologisch nicht ausprägen, etwa, weil sie im Vergleich zu den Aktivitätsunterschieden zwischen verschiedenen Genloci zu gering sind, oder ob bei Heterozygotie eine Art von Dominanz vorliegt, über deren Zustandekommen man sich allerdings keine Vorstellungen machen könnte; die bisherigen Beobachtungen sprechen nicht für die 2. Möglichkeit. Ob andererseits den heterozygoten Strukturmodifikationen eine besondere Klasse von Allelen zugrunde liegt, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

Zusammenfassung.

1. *Chironomus tentans* besitzt haploid drei lange, V-förmige und ein kurzes, stabförmiges Chromosom. Zwei der langen Chromosomen tragen einen Nukleolus.

2. Der Streckungszustand der 4 Riesenchromosomen bei ausgewachsenen Larven (gemessen als Durchmesser/Längen-Verhältnis) ist gewebespezifisch und individuell verschieden; gewebespezifisch ist ferner ihr Habitus: Die Speicheldrüsen-Chromosomen sind kompakt-zylin-drisch, die Malpighigefäß- und in geringem Maße die Rectum-Chromosomen besitzen „Mäander“-Struktur, während die Mitteldarm-Chromosomen schraubig gewundene, nahezu glatte Bänder darstellen. In der Paarung der Homologen und in der Neigung zu terminalen Bindungen finden sich ebenfalls gewebespezifische Unterschiede.

3. Vom Querscheibenmuster der Speicheldrüsen-Chromosomen wurden Chromosomenkarten aufgenommen. In allen Zellen der Speicheldrüsen und bei allen Individuen finden sich an homologen Chromosomenarten in der Regel Scheiben gleicher Ausprägung; das Querscheibenmuster ist, von Inversionen abgesehen, überall gleich. Unterschiede in

der Anzahl der erkennbaren Querscheiben haben zum Teil präparative Ursachen, zum Teil hängen sie mit dem Kontraktionszustand der Chromosomen und der Exaktheit des Scheibenbaues zusammen.

4. In der Entwicklung der Speicheldrüsen-Chromosomen werden folgende, durch fließende Übergänge verbundenen Stadien durchlaufen: Frühstadium, Knäuelstadium, Spiralstadium, Mäanderstadium und zylindrisches Endstadium. Dieser Entwicklungsprozeß ist von kontinuierlicher Längen- und Dickenzunahme der Chromosomen begleitet. Nach dem Spiralstadium tritt keine äußere Abwicklung der Spirale ein; die Schraubenstruktur bleibt als spiralförmige Aufwindung der Einzel-Längselemente auch im äußerlich zylindrischen, großen Speicheldrüsen-chromosom erhalten.

5. In Kernen von 8μ Durchmesser zeigen die Chromosomen bereits deutlichen Querscheibenbau und sind vollständig gepaart. Die Anzahl der erkennbaren Querscheiben nimmt mit fortschreitender Länge der Chromosomen zu; schon zu Beginn des Spiralstadiums läßt sich die Homologie des Musters der dickeren Querscheiben mit dem Muster der Speicheldrüsen-Chromosomen erwachsener Larven erkennen.

6. Das Querscheibenmuster des 3. Chromosoms aus Malpighigefäßen, Rectum und Mitteldarm der erwachsenen Larven wurde mit dem des 3. Speicheldrüsen-Chromosoms verglichen. Die Homologisierung wird durch die großen Unterschiede im Habitus erschwert, und die Anzahl der erkennbaren Scheiben wechselt stark; sie ist am höchsten in Mitteldarm-Chromosomen, am niedrigsten in den Rectum-Chromosomen. Der Vergleich der Chromosomenkarten zeigt aber, daß das Querscheibenmuster der Chromosomen verschiedener Gewebe übereinstimmt.

7. Die Struktur der Querscheiben kann sekundär modifiziert sein. Solche lokalen Strukturmodifikationen sind die Balbiani-Ringe und die in größerer Anzahl beobachteten Anschwellungen und diffusen Zonen bzw. Querscheiben („puffs“ und „bulbs“ der früheren Autoren), deren Entstehung sich in allen Fällen auf einzelne Querscheiben zurückführen läßt. Die strukturmodifizierten Stellen sind wahrscheinlich Orte besonders hohen Stoffumsatzes, wie sich am Beispiel der Balbiani-Ringe experimentell zeigen läßt.

8. Auftreten und Ausprägung der verschiedenen Strukturmodifikationen sind variabel; innerhalb der Zellen eines Organes finden sich nur unwesentliche, von Gewebe zu Gewebe dagegen deutliche spezifische Unterschiede, derart, daß man von einem gewebespezifischen Muster der Strukturmodifikationen sprechen kann. Auch zwischen Larven und Vorpuppen bestehen Unterschiede: Einige Strukturmodifikationen werden rückgebildet, andere treten neu auf. Die Balbiani-

Ringe des 4. Chromosoms finden sich nur in der Speicheldrüse. Die genetischen und umweltbedingten individuellen Schwankungen treten demgegenüber zurück.

9. Die Ergebnisse bilden eine weitere Bestätigung der Polytäniehypothese; schraubig gewundene Längselemente sind die Grundlage der verschiedenen Strukturzustände der Riesenchromosomen; auch die Struktur der Balbiani-Ringe wird auf die Schraubenstruktur zurückgeführt. — Die Befunde über die Strukturmodifikationen sind der erste unmittelbare cytologische Hinweis dafür, daß die einzelnen Elemente des Genoms auf die inneren wie auf die äußeren Bedingungen differentiell reagieren.

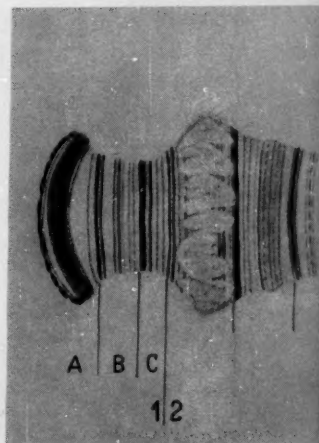
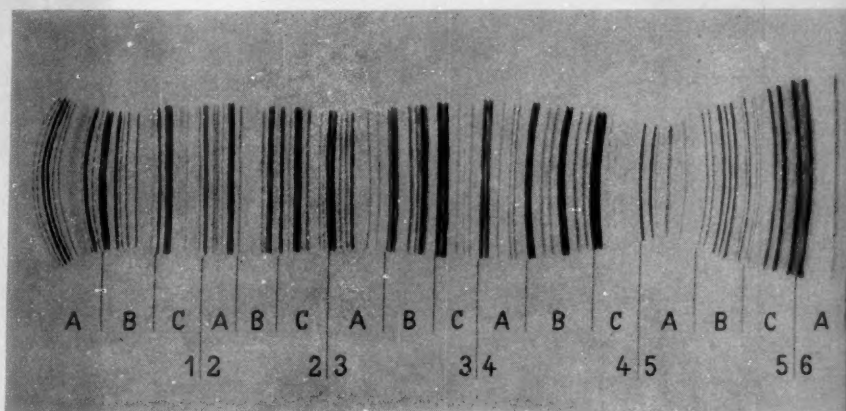
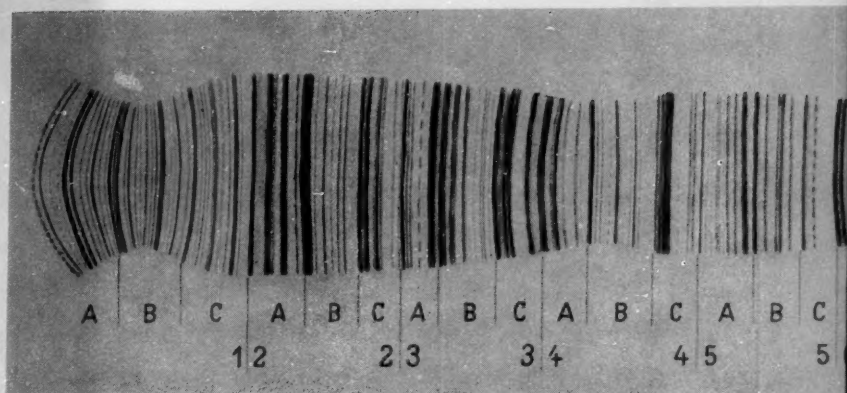
Literatur.

- ALVERDES, F.: Die Kerne in den Speicheldrüsen der *Chironomus*-Larve. Arch. exper. Zellforsch. 9, 168—204 (1912). — BALBIANI, E. G.: Sur la structure du noyau des cellules salivaires chez les larves de *Chironomus*. Zool. Anz. 4, 367—641 (1881). BAUER, H.: Der Aufbau der Chromosomen aus den Speicheldrüsen von *Chironomus Thummi* KIEFF. Z. Zellforsch. 23, 280—313 (1935). — Beiträge zur vergleichenden Morphologie der Speicheldrüsen-Chromosomen (Untersuchungen an den Riesenchromosomen der Dipteren. II.). Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. 56, 239—276 (1936). — Die polyploide Natur der Riesenchromosomen. Naturwiss. 26, 77 (1938). — Chromosomen und Systematik bei Chironomiden. Arch. f. Hydrobiol. 40, 994—1008 (1945). — BAUER, H., u. W. BEERMANN: Die Polytänie der Riesenchromosomen. Chromosoma (Heidelberg) 4, 630—648 (1952). — BAUER, H., and T. CASPERSSON: Cytochemical observations on nucleolus formation in *Chironomus*. Proc. 8. Internat. Congr. Genet. Hereditas (Lund) Suppl. 1949, 533—534. — BEERMANN, W.: Chromomerenkonstanz bei *Chironomus*. Naturwiss. 37, 543—544 (1950). — Chromosomenstruktur und Zelldifferenzierung in der Speicheldrüse von *Trichocladius vitripennis*. Z. Naturforsch. 7b, 237—242 (1952). — BERGER, C. A.: The uniformity of the gene complex. J. Hered. 31, 3—4 (1940). — BOGOJAWLENSKI, K. S.: Studien über Zellengröße und Zellenwachstum: Über Beziehungen zwischen Struktur und Volumen der somatischen Kerne der Larven von *Anopheles maculipennis*. Z. Zellforsch. 22, 47 (1935). — BRACHET, J.: Embryologie chimique. Paris 1944. — BRIDGES, C. B.: Cytological data on chromosome four of *Drosophila melanogaster*. Trans. Dynam. Development. USSR 10, 463—473 (1935). — BUCK, J. B.: Growth and development of the salivary chromosomes in *Sciara*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 23, 423—428 (1937). — Micromanipulation of salivary gland chromosomes. J. Hered. 33, 3—10 (1942). — CASPARI, E.: On the action of genes in development. Portugal. Acta Biol., Ser. A, Bd. R. B. GOLDSCHMIDT 147—160 (1949). — COOPER, K. W.: Concerning the origin of polytene chromosomes. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 24, 452—458 (1938). — DOYLE, W. L., and C. W. METZ: Structure of the chromosomes in the salivary gland cells in *Sciara*. Biol. Bull. 69, 126—135 (1935). — FAUSSEK, W.: Zur Frage über den Bau des Zellkerns in den Speicheldrüsen der Larve von *Chironomus*. Arch. mikrosk. Anat. 82, 39—60 (1913). — FRIEDRICH-FREKSA, H.: Kräfte beim Aufbau biologischer Struktureinheiten. Naturforschung und Medizin in Deutschland (Fiat Review), Bd. 21. Biophysik, Teil I, S. 44—49. 1948. — FROLOWA, S.: Development of the giant nuclei of salivary gland type in different organs of *Drosophila* and their comparison with „metabolic“ nuclei of larvae and imago. Biol. Zhurn.

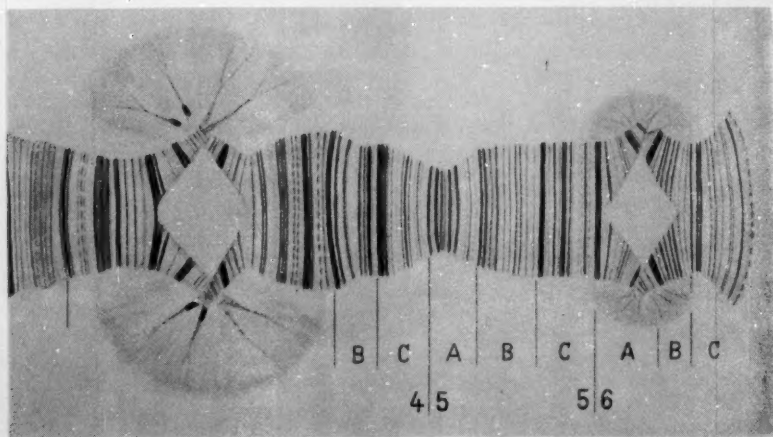
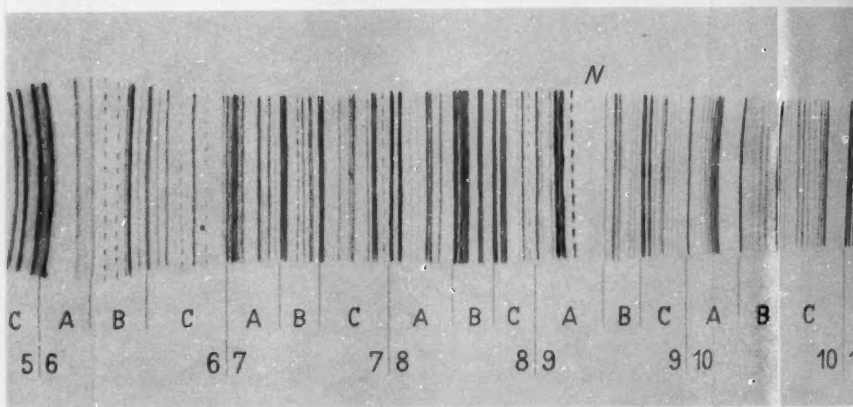
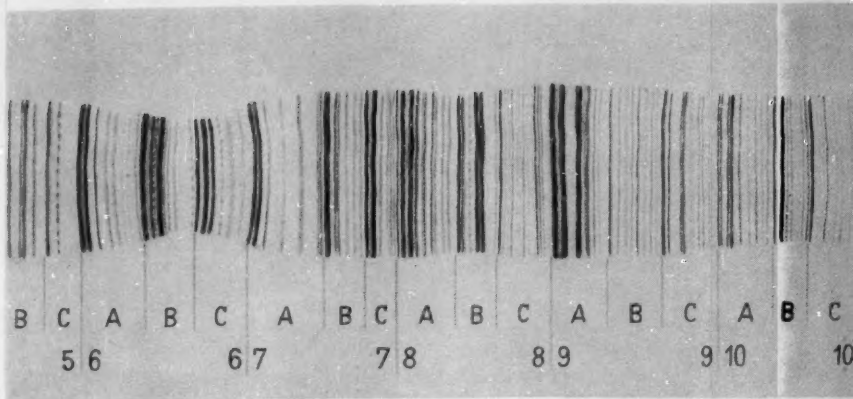
- 7, 703—736 (1938). — GEITLER, L.: Die Schleifenkerne von *Simulium*. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. 54, 237—248 (1934). — Über den Bau des Ruhekerns mit besonderer Berücksichtigung der Heteropteren und Dipteren. Biol. Zbl. 58, 152—179 (1938). — Die Entstehung der polyploiden Somakerne der Heteropteren durch Chromosomenteilung ohne Kernteilung. Chromosoma (Berlin) 1, 1—22 (1939). — GOLDSCHMIDT, E.: The pattern of salivary gland chromosomes in a hybrid in the genus *Chironomus*. J. Hered. 33, 265—272 (1942). — Studies on the synapsis in salivary chromosomes of hybrid *Chironomus* larvae. J. Genet. 48, 194—205 (1947). — GOLDSCHMIDT, R. B.: Marginalia to McCLINTOCK's work on mutable loci in Maize. Amer. Naturalist 84, 437—455 (1950). — GRELL, M.: Cytological studies in *Culex* I. Somatic reduction divisions. Genetics 31, 60—76 (1946). HEITZ, E.: Die Ursache der gesetzmäßigen Zahl, Lage, Form und Größe pflanzlicher Nukleolen. Planta (Berl.) 12, 774—844 (1931). — HEITZ, E., u. H. BAUER: Beweise für die Chromosomennatur der Kernschleifen in den Knäuelkernen von *Bibio hortulanus* L. Z. Zellforsch. 17, 67—82 (1933). — HINTON, T., and K. C. ARWOOD: Terminal adhesions of salivary gland chromosomes in *Drosophila*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 27, 491—496 (1941). — HSU, T. C., and T. T. LIU: Microgeographic analysis of chromosomal variation in a Chinese species of *Chironomus* (Diptera). Evolution (Lancaster, Pa.) 2, 49—57 (1948). — KAUFMANN, B. P.: Nucleolus organizing regions in salivary gland chromosomes of *Drosophila melanogaster*. Z. Zellforsch. 28, 1—11 (1938). — Chromosome structure in relation to the chromosome cycle. II. Bot. Rev. 14, 57—126 (1948). — KING, R. L., and H. W. BEAMS: Somatic synapsis in *Chironomus* with special reference to the individuality of the chromosomes. J. of Morph. 56, 577—586 (1934). — KOLLER, P. C.: Internal mechanics of chromosomes. IV. Pairing and coiling in the salivary gland nuclei of *Drosophila*. Proc. Roy. Soc., Lond., Ser. B 118, 371—397 (1935). — KOLTZOFF, N. K.: The structure of the chromosomes in the salivary glands of *Drosophila*. Science (Lancaster, Pa.) 80, 312—313 (1934). — KOSWIG, C., u. A. SENGÜN: Neuere Untersuchungen über den Bau der Riesenchromosomen der Dipteren. Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul, Sér. B 12, 107—121 (1947a). — Vergleichende Untersuchungen über die Riesenchromosomen der verschiedenen Gewebearten verschiedener Dipteren. C. r. ann. et Arch. Soc. Turque Sci. Phys. et Nat. 13, 94 bis 101 (1947b). — Intraindividual variability of chromosome IV of *Chironomus*. J. Hered. 38, 235—239 (1947c). — MACKENSEN, O.: Locating genes on salivary chromosomes. J. Hered. 26, 163—174 (1935). — MAKINO, S.: A morphological study of the nucleus in various kinds of somatic cells of *Drosophila virilis*. Cytologia 9, 272—282 (1938). — McCLINTOCK, B.: The relation of a particular chromosomal element to the development of the nucleoli in *Zea mays*. Z. Zellforsch. 21, 294—328 (1934). — MELLAND, A. M.: Types of development of polytene chromosomes. Proc. Roy. Soc. Edinburgh B 61, 316—327 (1942). — METZ, C. W.: Structure of salivary gland chromosomes. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 9, 23—39 (1941). — METZ, C. W., and E. G. LAWRENCE: Studies on the organization of the giant gland chromosomes of *Diptera*. Quart. Rev. Biol. 12, 135—151 (1937). PAINTER, T. S.: An experimental study of salivary chromosomes. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 9, 47—54 (1941). — PAINTER, T. S., and A. B. GRIFFEN: The origin and structure of salivary gland chromosomes of *Simulium virgatum*. Genetics 22, 612—633 (1937). — PATTERSON, J. T., W. S. STONE and A. B. GRIFFEN: Evolution of the virilis group in *Drosophila*. Univ. Texas Publ. 4032, 218—250 (1940). — PAULING, L., R. B. COREY and H. R. BRANSON: Two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 37, 205—211 (1951). — POULSON, D. F., and C. W. METZ: Studies on the

structure of nucleolus forming regions and related structures in the giant salivary gland chromosomes of *Diptera*. J. of Morph. 63, 363—395 (1938). — SCHULTZ, J.: The evidence of the nucleoprotein nature of the genes. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 9, 55—65 (1941). — The nature of heterochromatin. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 12, 179—191 (1947). — SENGÜN, A.: Vergleichend-ontogenetische Untersuchungen über die Riesenchromosomen verschiedener Gewebearten der Chironomiden. I. Comm. Fac. Sci. Univ. Ankara 1, 187—248 (1948). — SENGÜN, A., u. C. KOSWIG: Weiteres über den Bau der Riesenchromosomen in verschiedenen Geweben von *Chironomus*-Larven. Chromosoma (Wien) 3, 195—207 (1947). — SLIZYNSKI, B. M.: Partial breakage of salivary chromosomes. Genetics 35, 279—287 (1950). — *Chironomus* versus *Drosophila*. J. Genet. 50, 77—78 (1950). — SUTTON, E.: Salivary gland type chromosomes in mosquitoes. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 28, 268—271 (1942). — WARTERS, M., and A. B. GRIFFEN: The telomeres of *Drosophila*. J. Hered. 41, 183 (1950). — WHITE, M. J. D.: Animal cytology and evolution. Cambridge Univ. Press 1945.

Dr. W. BEERMANN, Max Planck-Institut für Meeresbiologie,
Wilhelmshaven.



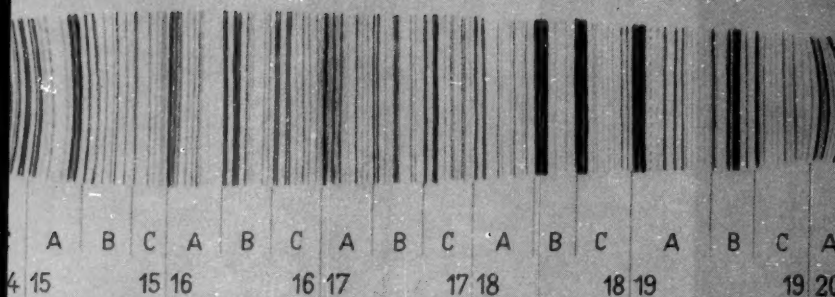
Karten des 1., 2. und 4. Speicheldrüsen-Chromo



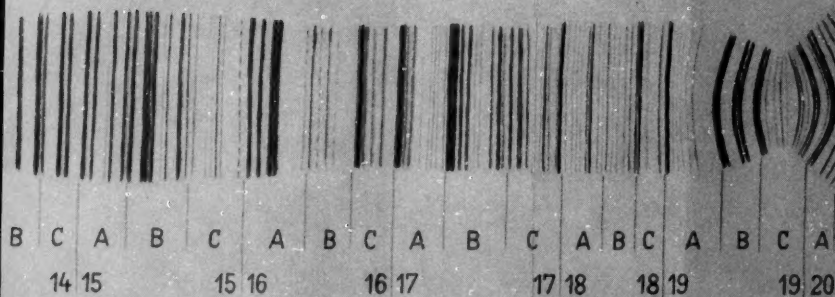
n-Chromosoms von *Chironomus tentans* FABR.



1. Chromosom

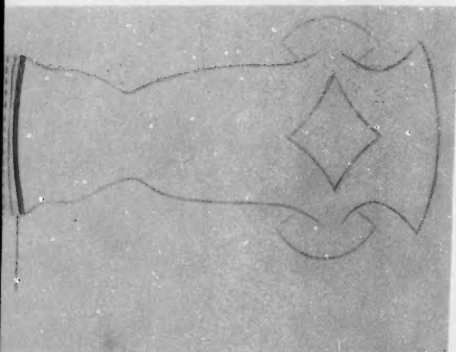


2. Chromosom



4. Chromosom

Links mit Auflockerungszonen in typischer
Rechts ohne 1. und 2. Auflockerungszonen



Tafel II.



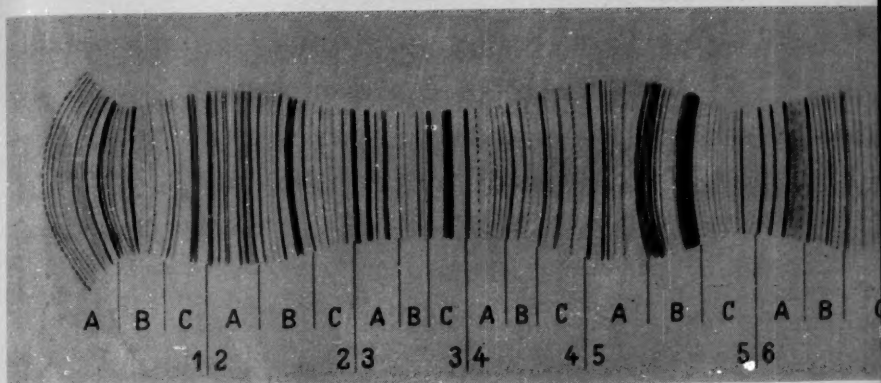
men in typischer Ausprägung
Flockungszone

THE
FEDERAL
BUREAU OF
INVESTIGATION
OF THE
DEPARTMENT OF JUSTICE
WASHINGTON, D. C.

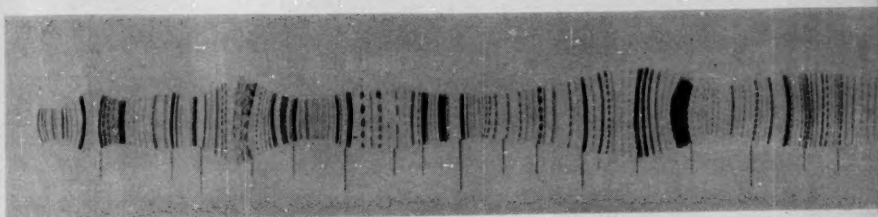
REPORT OF THE
FEDERAL BUREAU OF
INVESTIGATION
ON THE
ACTS OF
VIOLENCE
COMMITTED
BY THE
KLU KLUX KLAN
IN THE
STATE OF
MISSISSIPPI
DURING
THE
SUMMER
OF 1955



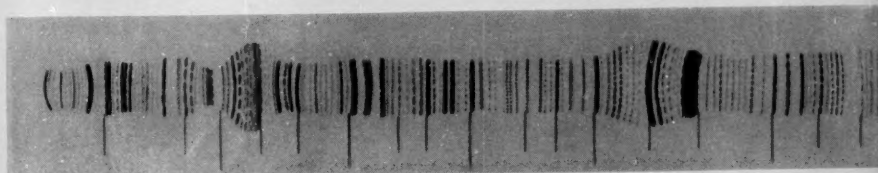
Chromosoma, Bd. 5.
aus Speicheldrüsen



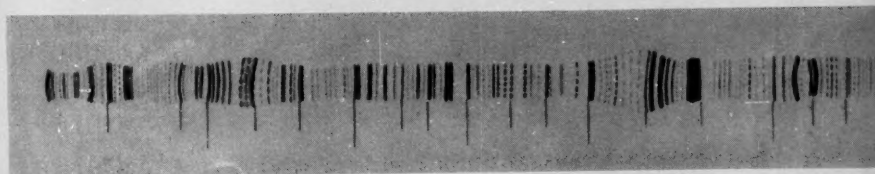
aus Malpighigefäßen



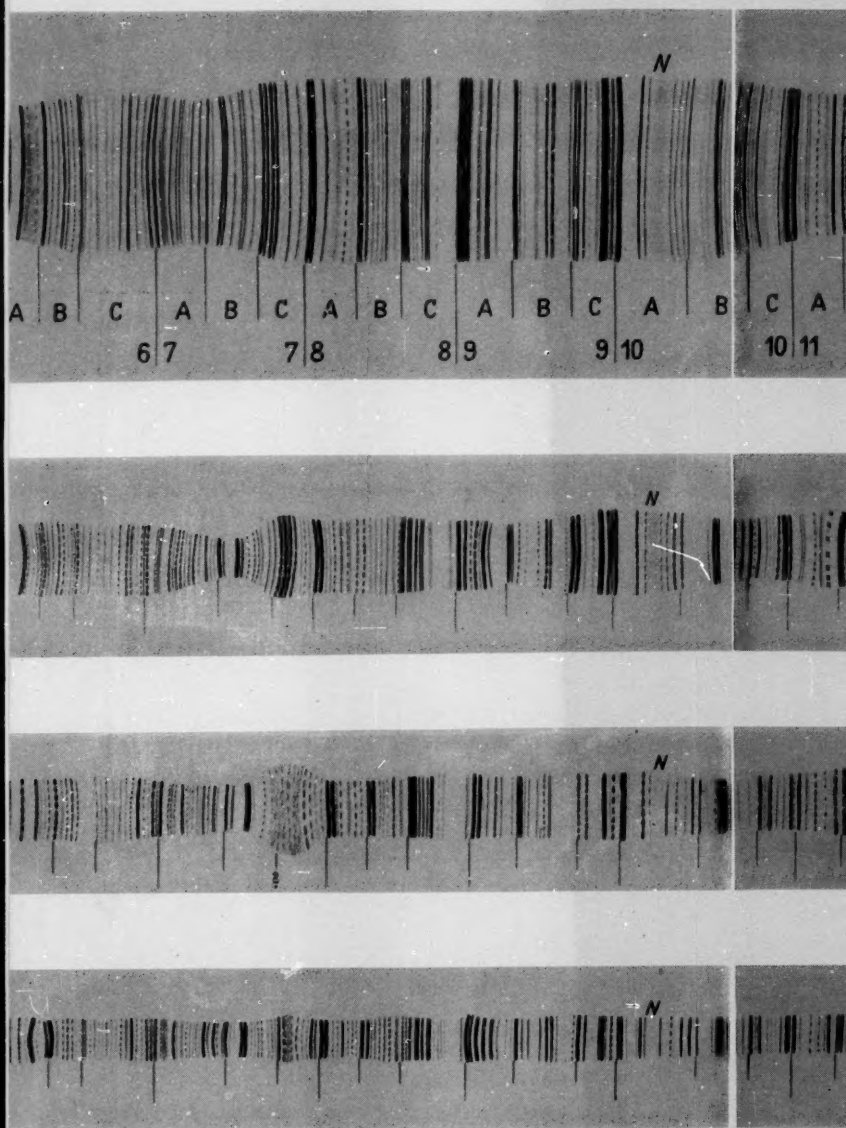
aus Rectum



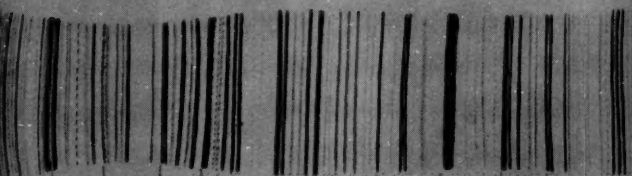
aus Mitteldarm



Karten des 3. Chromosoms von *Chironomus tentans* FABR.



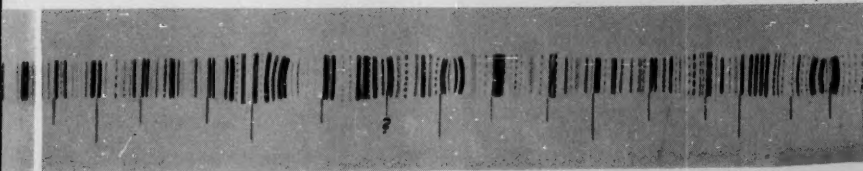
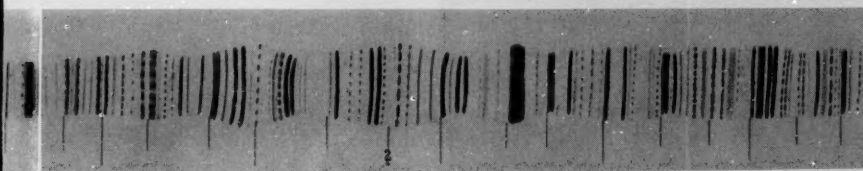
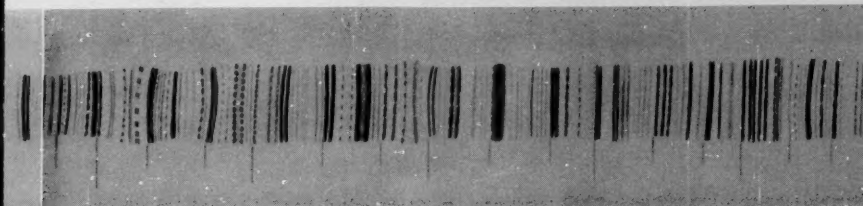
ABR.



C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A
10	11		11	12		12	13		13	14



A series of 15 vertical barcode-like patterns, each labeled with a letter (B, C, A) and a number (10, 11, 12, 13, 14, 15) below it. The patterns consist of vertical black lines of varying thickness and spacing on a light background.



Tafel II.

